



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN
EN LOS CRIADEROS DE MANTENIMIENTO Y MATERNIDAD DEL
BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS.”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

Presentado por:

EVELIN GABRIELA CHACHA GARCÉS

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A mis padres con mucho amor y cariño les dedico todo el esfuerzo y trabajo puesto para la realización de esta tesis.

AGRADECIMIENTO

En el presente trabajo de tesis quiero agradecer primeramente a Dios por brindarme la vida, bendecirme y darme fortaleza en la adversidad.

A mis amados abuelitos Juanita y Luis por ser mi motor y mi corazón por siempre tener sus brazos abiertos, brindarme apoyo y sobre todo tanto amor.

Le doy gracias a mis padres Elva Garcés y Rodrigo Chacha por brindarme la oportunidad de tener una buena educación durante toda mi vida, por su apoyo incondicional, por inculcarme valores y sobre todo por un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanos Lileth, Glenda y Rodrigo por darle alegría a mi vida y acompañarme durante todo este largo camino.

A mis adoradas tías Patty y Anita por ser mis amigas, mis cómplices y mis consejeras. A mi tío Leo por ser un ejemplo y alguien a quien admiro mucho

También quiero agradecer a mi Tutor Dr. Francisco Portero por el tiempo, por los conocimientos, las sugerencias y por facilitarme los medios para la realización de este trabajo y de manera muy especial al Bioquímico Germán Toapanta por su colaboración, apoyo, paciencia, su visión crítica, orientación, rigurosidad, su capacidad de guiar mis ideas y ser un aporte invaluable

A todos y cada uno de mis queridos amigos/as por sus ánimos, compañía en los momentos difíciles de mi vida y sobre todo por tantas historias vividas que se quedan grabadas en mi mente.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN EN LOS CRIADEROS DE MANTENIMIENTO Y MATERNIDAD DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS” de responsabilidad de la señorita egresada Evelin Gabriela Chacha Garcés ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Francisco Portero DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
BQF. Germán Toapanta MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Dr. Carlos Espinoza MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tec. Carlos Rodríguez DIRECTOR DE CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Evelin Gabriela Chacha Garcés soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

EVELIN GABRIELA CHACHA GARCÉS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I.....	4
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 Definición del bioterio.....	4
1.2 Sectores de un bioterio	4
1.3 Clasificación de los animales de laboratorio	6
1.4 Mantenimiento de animales.....	7
1.5 Medio ambiente	9
1.5.1 Macroambiente o encierro secundario.....	9
1.5.2 Microambiente o encierro primario.....	13
1.6 Descontaminación	19
1.7 Limpieza	20
1.7.1 Lavado	21
1.7.2 Modo de acción de un detergente	22
1.7.3. Tipos de detergentes	23
1.8 Desinfección	23
1.8.1 Factores que influyen en la desinfección.....	23
1.8.2 Selección del desinfectante.....	24
1.8.3 Métodos de desinfección	25
1.8.3.1 Métodos físicos.....	25
1.8.3.2 Métodos químicos	26
1.9 Biofilm o biopelículas	29
1.10 Adaptación de los microorganismos	31
1.11 Rotación de desinfectantes	32
1.12 Esterilización	33
1.13 Técnicas de limpieza y desinfección de áreas	34

1.14 Requisitos para la limpieza y desinfección	34
1.15 Limpieza y desinfección de superficies ambientales.....	34
1.16 Control de plagas	36
1.17 Eliminación de desechos	37
1.18 Condiciones de bioseguridad.....	37
1.19 Zoonosis	38
CAPÍTULO II	40
2. PARTE EXPERIMENTAL	40
2.1 Lugar de la investigación.....	40
2.2 Metodología de trabajo.....	41
2.2.1 Aspectos de la metodología.....	41
2.2.2 Planificación	41
2.2.3 Ejecución	43
CAPÍTULO III.....	56
3. RESULTADOS	56
3.1 MACROAMBIENTE.....	56
3.1.1 Control de la temperatura y la humedad.....	56
3.1.2 Identificación de microorganismos presentes en el macro y microambiente.	57
3.1.3 Control microbiológico de aire.....	57
3.1.4 Control microbiológico de los pisos	58
3.1.5. Control microbiológico de paredes	60
3.1.6 Control microbiológico de ventanas.....	62
3.1.7 Control microbiológico de puertas	64
3.1.8 Control microbiológico de estantes	66
3.2 MICROAMBIENTE	68
3.2.1 Control microbiológico de jaulas	68
3.2.2 Control microbiológico de comederos	69
3.2.3 Control microbiológico de los bebederos.....	69
3.2.4 Control microbiológico de los tapones de los bebederos	70
3.2.5 Control microbiológico del lecho	71
3.2.6 Control microbiológico del alimento.....	72
3.2.7 control microbiológico del agua	73
3.3. CONTROL DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	73

3.3.1. Identificación de ectoparasitos en ratones	73
3.3.2 Identificación de ectoparasitos en ratas	74
CAPÍTULO IV	75
4. CONCLUSIONES	75
CAPÍTULO V	78
5. RECOMENDACIONES.....	78
CAPÍTULO VI	79
6. RESUMEN.....	79
CAPÍTULO VII	81
7. BIBLIOGRAFÍA	81
CAPITULO VIII.....	¡Error! Marcador no definido.
8. ANEXOS.....	¡Error! Marcador no definido.

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Control de la temperatura del bioterio,(enero 2014)	56
CUADRO 2. Control de la humedad relativa del bioterio, (enero 2014)	56
CUADRO 3. Identificación de microorganismos en el macro y microambiente	57
CUADRO 4. Control microbiológico del aire	57
CUADRO 5. Control microbiológico de aerobios mesófilos de los pisos.....	58
CUADRO 6. Control microbiológico de coliformes de los pisos.....	59
CUADRO 7. Control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos.....	59
CUADRO 8. Control microbiológico de aerobios mesófilos de las paredes	60
CUADRO 9. Control microbiológico de coliformes de las paredes	61
CUADRO 10. Control microbiológico de mohos y levaduras de las paredes	¡Error!
Marcador no definido.1	
CUADRO 11. Control microbiológico de aerobios mesófilos de las ventanas	¡Error!
Marcador no definido.2	
CUADRO 12. Control microbiológico de coliformes de las ventanas	63
CUADRO 13. Control microbiológico de mohos y levaduras de las ventanas	63
CUADRO 14. Control microbiológico de aerobios mesófilos de las puertas.....	64
CUADRO 15. Control microbiológico de coliformes de las puertas.....	65
CUADRO 16. Control microbiológico de mohos y levaduras de las puertas.....	65
CUADRO 17. Control microbiológico de aerobios mesófilos de los estantes	66
CUADRO 18. Control microbiológico de coliformes de los estantes	67
CUADRO 19. Control microbiológico de mohos y levaduras de los estantes	67
CUADRO 20. Control microbiológico de las jaulas.....	68
CUADRO 21. Control microbiológico de los comederos	69
CUADRO 22. Control microbiológico de los bebederos.....	69
CUADRO 23. Control microbiológico de los tapones de los bebederos	70
CUADRO 24. Control microbiológico del lecho.....	71
CUADRO 25. Control microbiológico de los pellets	72
CUADRO 26. Control microbiológico del agua.....	73
CUADRO 27. Control de ectoparasitos en ratones.....	73
CUADRO 28. Control de ectoparasitos de ratas.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Espacio recomendado para ratones.....	13
TABLA 2. Parámetros bacteriológicos para agua potable	16
TABLA 3. Parámetros físicos para agua potable	16
TABLA 4. Parámetros nutricionales	18
TABLA 5. Frecuencia de limpieza rutinaria	36
TABLA 6. Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo	38

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Procedimiento de limpieza y desinfección del Bioterio de la Facultad de Ciencias, ESPOCH	100
ANEXO B. Análisis microbiológico del agua y alimento laboratorio AQMIC	135

INTRODUCCIÓN

La palabra Bioterio proviene del griego “BIOS” que significa vida y “TEIRON” que significa conservar por tanto el bioterio es el lugar destinado a la cría y control de los animales de laboratorios.

Países como Canadá, España, Inglaterra, Estados Unidos, México y Argentina, poseen leyes y reglamentos para la regulación, producción, cuidados éticos y uso de los biomodelos experimentales. Estos reglamentos no difieren grandemente uno del otro, puesto que tienen como base acuerdos internacionales como Declaración Universal de los Derechos de los Animales (UNESCO 1986) y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NRC, 1996).

En Ecuador existen algunos bioterios localizados en diferentes Universidades y Laboratorios Industriales Farmacéuticos; los mismos que se rigen a normativas internas desarrolladas bajo los fundamentos de manuales aprobados internacionalmente.

La salud de un animal está continuamente en riesgo de adquirir una gran variedad de infecciones, las mismas que pueden ser asintomáticas o en algunos casos evidentes. La clínica de una infección puede no ser observada hasta que el animal es estresado, como es el caso de un procedimiento experimental. Y siendo estas infecciones en roedores subclínicas a menudo ocurren modificaciones en los resultados de una investigación de ahí que es imprescindible la prevención de la infección y no solamente la prevención de enfermedades clínicas.

Además de tomar en cuenta el bienestar del animal el principal objetivo de un control de salud para modelos experimentales, es definir el estado biológico de

los especímenes para obtener un diagnóstico acertado de la presencia o ausencia de ciertos microorganismos patógenos, lesiones y otras alteraciones que bien pueden ocasionar variables experimentales.

El monitoreo microbiológico de las instalaciones del bioterio y los animales de experimentación son primordiales para detectar la presencia de microorganismos no deseados o para conocer los cambios microbiológicos en su macro o microambiente y así poder evaluar los procedimientos rutinarios de limpieza y desinfección. Este monitoreo debe ser periódico para los animales de laboratorio y así analizar la presencia o estado de su microbiota no patógena definida implantada voluntariamente o su microbiota no patógena para la especie obtenida espontáneamente o accidentalmente en contacto con el hombre.

Existen cuatro razones básicas para el control microbiológico de un bioterio. Los microorganismos pueden influir en los resultados de la prueba en los cuales los animales son usados; los microorganismos tienen una influencia negativa en el *status* de los especímenes; los microorganismos pueden infectar otras especies, incluyendo al hombre lo cual se denomina zoonosis; los microorganismos tienen una influencia negativa en el resultado de la producción de los animales.

En un control biológico para microorganismos patógenos no deseados, Se debe tener en cuenta aspectos como: la frecuencia de los muestreos, el tamaño de la muestra, el tipo de muestras, el procedimiento para identificar los microorganismos específicos, el conocimiento de la sensibilidad y especificidad de los métodos o *test* usados y el conocimiento de la prevalencia de los microorganismos presentes.

Por lo tanto se considera que la limpieza y desinfección son una de las claves para llevar correctamente un bioterio aunque estas son muy dependientes del diseño y del material de construcción de las instalaciones. El objetivo de un programa sanitario es de reducir la contaminación microbiana a un nivel que se evite una posible contaminación cruzada.

La Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuenta con un área en donde se crían, mantienen y utilizan animales de experimentación. Los especímenes que se producen son ratas albinas (*Rattus norvegicus*) también llamadas ratas noruegas y ratones albinos (*Mus musculus*), Éstos animales son utilizados para prácticas estudiantiles, proyectos de investigación y tesis.

La implementación del programa de limpieza y desinfección debe responder a las necesidades y exigencias del bioterio, además debe permitir definir lo que se debe hacer y los fundamentos de los métodos que se van a aplicar in situ para lograr mantener los niveles de contaminación de las áreas de mantenimiento y maternidad reducidos al máximo.

Las condiciones de salud de los animales dependen en gran medida del programa de limpieza y desinfección de cada área, por lo cual es necesario reducir al máximo los patógenos. No se deben usar agentes de limpieza o desinfectantes que generen olores o los enmascaren. Las prácticas de sanidad deben verificarse periódicamente mediante cultivos microbiológicos para detectar la presencia de contaminantes biológicos.

La disponibilidad de animales con una alta calidad microbiológica para la investigación es un importante factor, ya que el uso de los mismos con una baja calidad minimiza la confiabilidad de los resultados. Por tanto para que una investigación sea considerada de alta calidad y confiable es necesario que los animales de laboratorio usados posean una microbiota mínima, estable y conocida. Solo así, utilizando animales definidos y estandarizados se obtendrán resultados confiables y reproducibles.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 DEFINICIÓN DEL BIOTERIO

El bioterio es el lugar físico (infraestructura) donde se producen, alojan y experimentan con animales de laboratorio, el mismo que debe proporcionar un confortable macroambiente y microambiente, de acuerdo a las exigencias de la especie animal que se esté albergando; puesto que un perro no requerirá el mismo tratamiento que un ratón, ni que una oveja, por eso los bioterio deberán adaptarse a las exigencias y requerimientos de la especie que está criando. (Aguilar E. 2008)

El personal responsable del mantenimiento de los animales para experimentación deberá ser personal capacitado y calificado, para conocer los requerimientos definidos de la especie que debe cuidar, tales como: agua, alimento, lecho, las jaulas iluminación, ventilación, ruido luz, temperatura, humedad todo estos debe estar dentro de la normas de buenas prácticas en cuidado y mantenimiento de animales de experimentación, y debe usar vestimenta estéril, además debe protegerse con guantes, gorro, mascarilla para evitar zoonosis y contaminación cruzado que pueda afectar la microbiología estable del bioterio y así alterar el metabolismo de los biomodelos. El trabajo elaborado en el laboratorio siempre debe manejarse según protocolos internacionales en el cuidado y uso de animales de laboratorio de una forma ética. (Aguilar M. 2008)

1.2 SECTORES DE UN BIOTERIO

El bioterio se divide estratégicamente en distintos sectores que se distribuyen según la infraestructura y las necesidades de los animales.

1.2.1 AREA DE CRÍA.-el Área de Cría, se encuentran alojados los animales con todas las características que la especie exija y requiera para su subsistencia como alimentos, bebederos, cama etc. La calidad del área de cría es igual a la suma de las barreras que tenga con respecto al exterior siempre cuando en cada barrera se mejore la calidad microbiológica de la anterior. (Aréchiga H. 2000)

1.2.2 ZONA LIMPIA.- estas son área que se encuentra libre de gérmenes patógenos que pueden provocar infecciones en los animales. Los animales alojados aquí son limpios dependiendo de la calidad microbiológica que tenga el laboratorio. (Buenaño V. 2010)

La zona limpia requiere de una circulación unidireccional para evitar contaminación de sectores adyacente es así que todo lo que sale de la zona limpia no puede volver a entrar y lo que entra debe pasar por baños antisépticos y así cuidar la calidad microbiana del área y de los animales que en ella habitan. (Buenaño V. 2010)

1.2.3 ZONA SUCIA.- se ubica de forma adyacente a la zona limpia, necesaria porque hacia ella se evacua todo el material sucio o contaminado que sale de la zona limpia para poder ser lavado y desinfectado o sometido a cualquier procedimiento habitual o rutinario que requiera el equipo y que conste en las normas internas del bioterio. Sin embargo esta zona también requiere ser descontaminada para evitar problemas de salud pudiendo ser un simple pasillo una sala o un edificio, todo ira en dependencia del grado de complejidad de la infraestructura. (Buenaño V. 2010)

1.2.4 BARRERA.- se considera como barrera todo aquello que cumple la función de dividir sectores con distinto nivel de contaminación. Pudiendo ser éstas de tipo físicas o químicas todo va a depender de los requerimientos del laboratorio. (Fuentes F et.al 2008)

1.2.5 BARRERA FÍSICA: Son aquellos elementos físicos como puertas, cortinas de aire, presión de aire, autoclave que dividen sectores según su calidad microbiológica, esta puede estar entre la zona limpia y zona sucia para evitar contaminación cruzada entre estas. (Fuentes F. et.al 2008)

1.2.6 BARRERA QUÍMICA: Son acciones de tipo química usados para reducir la cantidad microbiológica de patógenos que pueden provocar enfermedades en los animales y en el personal. (Fuentes F. et.al 2008)

1.3 CLASIFICACIÓN DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

1.3.1 CATEGORÍAS HIGIÉNICO – SANITARIAS

Los animales de laboratorio se clasifican en cinco categorías para delimitarlo según su calidad. (Muñoz E. et.al 2007)

1.3.2 CATEGORÍA I O ANIMAL HALOXÉNICO

Son los animales definidos como convencionales sus condiciones de mantenimiento no poseen procesos especiales, sus instalaciones son de tipo abiertas, no obstante requieren estar libre de enfermedades infecciosas que pueda ser transmisibles al hombre, tanto en el examen clínico como post-mortem, en esta categoría no debe haber evidencia de, *Salmonella* y *Shigella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Leptospira spp*, Dermatofitos, *Sarcoptes scabiei*. (Sanfate C. 2007)

1.3.3 CATEGORÍA II O ANIMAL MIROXÉNICO

Son los animales convencionales aislados en situaciones sanitarias estándares regidas por protocolos, y a más de estar libre de los patógenos de la categoría I requiere estar libre de *Listeria monocytogenes*, *Clostridium piliformis*, Céstodos, Artrópodos, especies determinadas y virus como: *Ectromelia* (Ratón) y *Myxomatosis* (Conejo). (Soldado N. 2009)

1.3.4 CATEGORÍA III O "ANIMAL GNOTOBIÓTICO CON MICROBIOTA DEFINIDA"

Estos animales deben estar libre de los patógenos de la categoría II y además de: *Bordetella bronchiseptica*, toda *Pasteurella*, todas las Coccidias (*Eimerias spp*) y helmintos patógenos. Y en especies definidas se requiere ausencia de: *Streptobacillus*

moniliformis (Ratones y Ratas), *Corynebacterium kutscheri* (*C. murium*) (Ratones), *Streptococcus pneumoniae* (Cobayo y Conejo), todas las especies de *Mycoplasma* (Ratones y Ratas), *Treponema cuniculi* (Sífilis del conejo/Conejo) (León F. Escárte P. 2009)

1.3.5 CATEGORÍA IV O ANIMAL HETEROXÉNICO

Son denominados (Specific Pathogens Free, SPF). Son animales libres de patógenos su mantenimiento debe ser en zonas altamente limpias con sistemas estándares y además de no poseer ningún patógeno de las categorías anteriores debe estar libre de: Estreptococos (excepto Grupo D), Neumococos, Helmintos, Protozoos patógenos, Virus que afectan estas especies. Además especies determinadas requieren la ausencia de: todas las especies de *Mycoplasma* (Hamster y Cobayo), *Fusiformis necrophorus* (Conejos). (López B 1997)

1.3.6 CATEGORÍA V O ANIMAL AXÉNICO (LIBRE DE GÉRMENES, GF)

Son animales libres de todo microorganismo su mantenimiento es áreas completamente estériles, derivados por cesárea y criados en aisladores para evitar cualquier contaminación del medio aunque no siempre se logra puesto que son procesos sumamente complejos a pesar de seguir protocolos estándares. (Márquez R. 1997)

1.4 MANTENIMIENTO DE ANIMALES

Los animales de experimentación deben ser mantenidos bajo condiciones óptimas para su bienestar tomando en cuenta la ética a la hora tratarlos a demás que mediante su uso podemos hacer estudios pues compartimos funciones fisiológicas y la capacidad de percibir las distintas sensaciones a las que estamos sometidos como dolor, hambre, sed, saciedad, placer, etc. y así conseguir una respuesta para un determinado tratamiento. (Torres A.et.al. 2002)

Las condiciones de mantenimiento de los animales son de tipo artificial sin embargo se procurará que esta estancia no involucre malestar, incomodidad o estrés, es decir el animal debe sentirse lo más cómodo posible, atendiendo constantemente las necesidades

fisiológicas de cada especie y tomando en cuenta que la mayoría de los biomodelos de experimentación son mamíferos, están sometidos a las mismas sensaciones que nosotros pudiendo afectarles cambios en la temperatura, la humedad, el ruido, la luz el hacinamiento, el hambre y la sed, con la diferencia de que ellos no pueden cubrir sus necesidades básicas e inmediatas para procurar su bienestar . (Zuñiga J. et.al. 2001)

1.4.1 Modelo Animal: es el espécimen en el cual se va a estudiar la biología, fisiología, el comportamiento, las patologías espontáneos o inducidos, para conseguir respuestas y ser probados y comparados con el ser humano u otras especies animales. (Zuñiga M. 2001)

Para la investigación se suelen emplear las siguientes categorías de modelos experimentales:

- Voluntarios humanos con o sin patología según de que trate la investigación.
- Animales de experimentación sanos o enfermos.
- Embriones, órganos, tejidos o células de origen vegetal, animal o humano obtenidas e nivel del laboratorio.
- Bacterias, hongos y protozoos originadas y criadas en ambientes controlados.
- Modelos inanimados tales como programas de computación y tecnología en sí.

1.4.2 Ratón: Es el modelo animal más empleado en investigación científica, existe alrededor de 3000 cepas distintas los cuales tiene parámetros fisiológicos específicos por esta razón facilitan el estudio dando respuestas que pueden tener un patrón, por lo que son muy útiles a la hora de la experimentación. Son animales nocturnos por ende son mucho más activos en la noche, su frecuencia respiratoria y cardíaca es muy elevada en relación a su tamaño. Es un espécimen naturalmente gregario, es decir que tiende a agruparse. Su apareamiento puede ser mono o poligámico, teniendo la opción de agrupar un macho con una o varias hembras. Sin embargo el apareamiento monogámico es más recomendable para tener registros de origen y productividad. Para esto se coloca el macho y la hembra en una misma jaula durante toda la vida reproductiva así se puede dar un seguimiento y un control de todo el proceso y evitar errores y problemas de confusión. Mientras que en el apareamiento poligámico se coloca 2-3 hembras con un macho se retira a los 3 días. La gestación dura 19 días. La

lactancia es de 21 días. La madurez sexual se alcanza a las 8-10 semanas. (Aguilar M 2008)

1.4.3 Rata: Es el segundo biomodelo más usado. Se reconocen más de 500 cepas distintas. Su característica peculiar es que no poseen vesícula biliar. Su sistema de apareamiento es monogámico o poligámico La madurez sexual se alcanza a los 60 días, pero al aparearse desde los 80-100 días alcanzan la máxima fertilidad y la mayor producción de hijos por camada se da entre los 100 y 130 días. Procurando no dejarse ratas juntas antes del parto para evitar que las madres comiencen a llevar y traer crías de un nido a otro, con gran nerviosismo y riesgo para las crías. (Aguilar M 2008)

1.5 MEDIO AMBIENTE

Los factores que involucran el medio ambiente de un bioterio en el que se van a desarrollar mantener y crecer los biomodelos son esenciales para que sus características ya sean genéticas, fisiológicas o comportamentales se mantengan estables y de este modo no cree problemas en las futuras investigaciones produciendo alteraciones en el metabolismo de los animales y obstruyendo así la obtención de resultados reproducibles exactos y confiables.

Mientras más controlemos estos factores mejores resultados obtendremos ya que la falla de estos o sus variaciones pueden generar problemas a corto mediano o largo plazo que conlleva a la mala calidad de los especímenes que se alojan en el laboratorio. Siempre cuidando de cubrir las necesidades de la especie que se está alojando tratando al animal como un ser viviente que merece ser respetado mas no como un utensilio de cual vamos hacer uso. (Garcés L. Giraldo C. 2012)

En el medio ambiente que involucra un bioterio podemos distinguir

- El Macroambiente o encierro secundario (Cuarto o local)
- El Microambiente o encierro primario (Cajas).

1.5.1 MACROAMBIENTE O ENCIERRO SECUNDARIO

Es todo lo que involucra al área que va a servir de alojamiento para la especie la misma que se subdivide en:

1.5.1.1 TEMPERATURA Y HUMEDAD

Los animales de experimentación requieren una temperatura adecuado de acuerdo a su estilo de vida para lograr su comodidad en estas áreas confinadas, llevarlos a sus límites tanto superiores como inferiores resultaría en alteraciones en su morfología, fisiología y conducta por decir menos porque además corre riesgo la vida del animal al no estar acostumbrado a tales temperaturas por eso es conveniente para cuidar la salud de los especímenes brindarles las comodidades requeridas para su desarrollo y supervivencia. Para escoger la temperatura ideal para los animales se debe tomar en cuenta también casos especiales como por ejemplo cuando un animal ha sido sometido a una cirugía o si se trata de especímenes sin pelo o neonatos conviene separarlos de sus madres y alojarlos en ambientes con una temperatura ambiental más elevada, para lograr su recuperación este incremento de temperatura dependerá del tipo de problema que se esté presentando en ese instante y de las circunstancias que involucran tal es el caso de la infraestructura y otros, por eso es conveniente analizar si se requiere una elevación de la temperatura de primer encierro o del segundo. (Valladares G. 2007)

El flujo diario de temperatura en un laboratorio de experimentación animal es de gran importancia para evitar anomalías en los animales de diferente orden que podría desembocar en una falla en los resultados y puesto que no existen estudios realizados a profundidad del control de las temperaturas de bulbo seco para varias especies el encargado del bioterio debe escoger conforme a su experiencia y sus conocimientos la temperatura más adecuada para lograr el confort y estabilidad de los animales.

La humedad relativa es muy importante aunque no requiere ser controlada con tanta severidad como la temperatura; el rango aceptable de humedad relativa es de 30 a 70%. (Dávila A. Zúñiga J. 2001)

1.5.1.2 VENTILACIÓN

La ventilación cumple con varias funciones entre las cuales tenemos: ofrecer un abastecimiento apropiado de oxígeno, separar la carga térmica derivada de la respiración animal, de la iluminación y los aparatos; disolver los gases y partículas contaminantes, ajustar la humedad del aire del cuarto, crear diferencia de presión de aire entre espacios contiguos. Sin embargo todas estas funciones no desembocan en una buena calidad del bioterio. Se requiere considerar que una buena ventilación en el microambiente va a depender de las corrientes de aire existentes en el ambiente del cuarto con el tipo de ventiladores, con la cantidad de suministro de aire, la localización, el número y como este distribuidos, existiendo un estándar general para el suministro de aire de un ventilador fijado 10 a 15 cambios por hora del volumen total de aire del encierro. (Vásquez D. 2007).

El uso de aire reciclado tiene muchos contaminantes de tipo patógeno del ambiente y de los animales que son llevados por el aire, polvo o por elementos inanimados que los alojan llamados fómites convirtiéndose en una fuente de contaminación en lugar de ser una ayuda para disminuirla y conservar los niveles de calidad, aunque sin embargo presenta una gran ventaja que es el ahorro de energía por esto es usada mediante la intervención de filtros de partículas de alta eficiencia que pueden ser regulados según el nivel de descontaminación que se requiera los mismo que se encargan de purificar el aire reciclado de salida y así seguir un círculo continuo de flujo de aire lo más seguro y descontaminado posible en el alojamiento de los animales y que se convierta en un ambiente seguro e inocuo. Sobre todo en los caso en los que hay presencia de gases tóxicos o causantes de olores como el amoníaco que requieren este tipo de tratamiento o en su defecto tratamientos de absorción química o extracción. (Weis C. et.al. 2002)

Sin embargo y a pesar de su ventaja la filtración de alta eficiencia solo puede ser usada si se toma en cuenta aspectos tales como: que el aire reciclado del cuarto no sobrepase el 50% del aire no reciclado, la limpieza, desinfección y esterilización del macro y microambiente es sumamente eficiente y elimina los gases tóxicos y los olores y el aire reciclado sea mezclado en suficiente proporción con el aire nuevo para mantener estables y cumplir con los rangos establecidos de temperatura y humedad de los animales en el área de alojamiento. (Bello F. Buján M. 2010). Otra desventaja del reciclado de aire es el costo pues todo sistema que conlleva una ventilación requiere mantenimiento y control rutinario de su eficiencia y eficacia sin estos parámetros bien

controlados no podemos obtener aire reciclado de calidad y los procesos de descontaminación serían ineficientes inapropiados e inadecuados convirtiéndose en su lugar otra fuente de contaminación por esto es conveniente verificar su funcionamiento incluyendo el volumen de entrada y presión estática para contar con un aire de calidad. (Dávila A. Zúñiga J. 2001)

1.5.1.3 ILUMINACIÓN

La luz influye directamente en la morfología, fisiología y conducta de los biomodelos, para lo cual hay que tomar en cuenta factores distintivos y característicos que ayudan al bienestar como: la duración de la exposición, la intensidad de la luz; la temperatura corporal, la longitud de onda, el tiempo de exposición, la pigmentación del animal, el estado hormonal, la edad, especie, sexo, raza del animal; todos parámetros son tomados en cuenta a la hora de escoger la iluminación adecuada para la especie que se esta alojando en el laboratorio y así garantizar su confort y cubrir sus necesidades sin alterar al reactivo biológico.(Zabala A. et.al. 2011)

La luz debe ser adecuada y debe llegar a todas y cada una de la jaulas existentes porque de esta van a depender dos factores esenciales que se requiere conservar y estabilizar que es la regulación neuroendócrina de los ciclos circadianos y diurnos. Para establecer los niveles de iluminación se ha establecido como referencia a las ratas y ratones albina porque son más susceptibles a la retinopatía fototóxica que otras especies de este modo se delimita los rangos permisibles y adecuados para la iluminación de los cuartos de alojamiento de los animales. (Zúñiga S. 2003). Los ratones jóvenes albinos y pigmentados, necesitan menor intensidad de luz en comparación con los adultos y si su exposición es corta los daños producidos pueden ser reversibles. Se recomiendan una intensidad de luz entre 130 y 325 luxes para los animales susceptibles. (Dávila A. Zúñiga J. 2001)

1.5.1.4 RUIDO

Para medir el ruido se toman en cuenta factores como intensidad, frecuencia, duración, rango y susceptibilidad que tiene los animales sometidos a tales ruidos, por esta razón se buscan condiciones de alojamiento adecuados en donde sus instalaciones garanticen el

mínimo ruido posible para evitar estrés o alteraciones morfológicas en los animales. (Rodríguez A. et.al 2012)

La comodidad de los animales y del personal que realiza sus actividades en laboratorios de experimentación animal esta en dependencia de la adecuada y correcta separación de las áreas de ocupación humana y animal ya que el sentido auditivo de los animales es mucho más sensible que el de los humanos y someterlos a niveles más altos de 85dB provocaría en estos eosinopatía, la sensibilidad auditiva de los animales llega a ser tan extrema que el sonido de equipo u otros materiales imperceptibles para el oído humano podría provocar en ellos molestias que con el tiempo irán generando otras alteraciones como el aumento del peso de las adrenales y disminución de la fertilidad. Por esto es imprescindible minimizar cualquier actividad que implique mucho ruido siempre respetando los protocolos para cuidar al máximo la calidad de los animales y brindarles comodidad para su correcto desarrollo. (Dávila A. Zúñiga J. 2001)

1.5.2 MICROAMBIENTE O ENCIERRO PRIMARIO

1.5.2.1 ESPACIO DE LA JAULA

Para escoger el espacio adecuado para cada especie que se desee alojar en el laboratorio se toma en cuenta criterios de salud, superficie corporal, peso, conducta, reproducción, crecimiento y actividad procurando que se satisfaga los requerimientos de tener espacio suficiente para voltearse y desarrollar sus posturas adecuadas sintiéndose lo más libre y cómodo posible para que pueda desenvolverse en sus actividades diarias individuales y grupales sin recurrir a exageraciones y aunque es un asunto complejo de delimitar la decisión está a criterio del operador encargado del cuidado de los animales. (Rodríguez P 2006). La necesidad de espacio que ofrezcan los encierros primarios, deben ser aprobados y evaluados por el personal a cargo tomando en cuenta los lineamientos internos acerca del cuidado y que los animales deben estar los más cómodos posible por ende este proceso es esencial y continuo. (Fillespie I. Mitchell R. 2001)

TABLA 1. ESPACIO RECOMENDADO PARA RATONES

ANIMALES	PESO CORPORAL (g)	ÁREA DE PISO/ANIMAL (cm²)	ALTURA^a cm
-----------------	----------------------------------	---	----------------------------------

	<10	38.71	12.7
Ratones	Hasta 15	51.61	12.7
	Hasta 25	77.42	12.7
	>25 ^b	96.77	12.7

Fuente: Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación (CCAC)

a. De piso a techo de la jaula.

b. Los animales más grandes pueden requerir más espacio para satisfacer los estándares de rendimiento.

1.5.2.2 JAULAS

Las jaulas son el encierro primario porque son los límites inmediatos que rodean al animal, y para que sea lo más cómoda posible debe cumplir con ciertas condiciones. (Bosiñevac J. et.al 2004)

- Los animales deben ser observados con claridad y facilidad con la mínima molestia para ellos.
- Deben ser seguro, sin bordes o salientes que impida el escape de los animales o que a su vez queden atrapados pudiendo lastimarse.
- Cumplir con los requerimientos de micción y la defecación para que los animales estén siempre limpios y secos.
- El mantenimiento de la temperatura corporal.
- Espacio para desarrollarse normalmente y en caso de reproducción.
- Las relaciones sociales entre individuos, es decir las jerarquías
- Una ventilación adecuada.
- El agua y alimento deben ser distribuidos a diario y de forma que sea de fácil consumo para los animales.
- Que el material sea de superficies lisas, impermeables, ausencia de bordes o proyecciones, resistente a la corrosión y que sobre todo soporte la manipulación dura para una correcta limpieza y desinfección.

1.5.2.3 LECHO

El material del encamado de los animales es un factor influyente en la calidad microbiológica del medio ambiente y en la comodidad de los animales, pudiendo producir alteraciones en los resultados experimentales. Ningún material usado como

lecho se puede considerar como ideal para ninguna especie y ninguna es ideal para todas las especies porque puede afectar su metabolismo debido a sus componentes o carga microbiana. Entre las características principales de un lecho se considera: (Bosilevac J. et.al. 2005)

- Debe absorber la humedad y fijar el amoníaco
- Libre de polvo, no poseer contaminación que provoque el crecimiento bacteriano
- No debe ser comestible para evitar problemas de salud o alteración en su dieta.
- No provocar traumatismos
- Que se pueda esterilizar sin formar productos indeseables o tóxicos.
- Fácil de almacenar.
- No ser tóxica, ser químicamente estable a lo largo del uso
- No nutritiva para evitar problemas de sobrepeso.
- Desagradable y difícil de masticar o de guardar en la boca
- Sin olores desagradables
- Apropiado para la nidación
- Fácil de incinerar
- Fácil de conseguir, barato
- Uniformidad entre los lotes
- No presenta peligro o riesgos para el personal.

Las virutas de cedro emiten hidrocarburos aromáticos los cuales son inductores de citotoxicidad y aumentan la incidencia de cáncer por lo que no debe de ser usados para la cama de los animales de experimentación. Sin embargo si se hace imprescindible su uso se debe someter a tratamientos de calor para reducir los niveles de agentes citotóxicos. Durante la esterilización en autoclave la cama puede absorber humedad, lo cual implica una reducción en su capacidad de absorción y facilita el crecimiento de microorganismos indeseables; por lo tanto, se deben dar los tiempos de secado y las condiciones de almacenaje apropiadas. (Bello F. Buján M. 2010)

Durante el transporte y almacenamiento del material de encamado se debe siempre conservar las normas de evitar contaminación cruzada por lo que se sugiere no ubicar sobre el piso sino más bien en tarimas, estantes o carros, de tal modo que se conserve su calidad. (Bello F. Buján M. 2010)

1.5.2.4 AGUA

El agua es una necesidad básica en la supervivencia de los animales de experimentación por lo que suministrarla diariamente es esencial pero a más de esto debe cumplir con requerimientos como el hecho de ser potable libre de contaminantes químicos de cualquier tipo e incluso altamente pura si los animales de experimentación son de categoría 5, para esto se debe hacer un control periódica del pH, dureza y contaminación química y microbiológica para asegurar que sea aceptable, en especial si se sabe que el agua local posee contaminantes que perjudican la salud de los animales.

Para lograr estos niveles aceptables en los parámetros del agua se necesita realizarle un tratamiento de purificación el mismo que deberá ser elegido de acuerdo a las exigencias del bioterio porque un agua contaminada tiene la capacidad de producir alteraciones fisiológicas, cambiar la microflora o alterar los resultados experimentales. (Bosilevac J. et.al. 2005)

Los materiales usados para dar de beber a los animales, tales como las pipetas de los bebederos y las válvulas automáticas, se deben inspeccionar diariamente para controlar un adecuado mantenimiento de limpieza del agua que se va a proveer a los animales (Ávila G. Fonseca M. 2008)

TABLA 2. PARÁMETROS BACTERIOLÓGICOS PARA AGUA POTABLE

MICROORGANISMO	LIMITE PERMISIBLE
Bacterias Aerobias mesófilos	Máximo 30 UFC / mL de muestra
Coliformes totales	2 NMP en 100mL de muestra
<i>Escherichia Coli</i>	0 NMP en 100mL de muestra

Fuente: Guías OMS 2005

TABLA 3. PARÁMETROS FÍSICOS PARA AGUA POTABLE

PARÁMETROS FÍSICOS	CONCENTRACIONES MÁXIMAS PERMITIDAS	CARACTERÍSTICAS
Color	15 UCV ^a	Apariencia
Sabor y Olor	-	Deben ser aceptables
Temperatura	-	Debe ser aceptable

Turbiedad	5 UNT b	Apariencia; para que la desinfección final sea eficaz, mediana de la turbiedad \leq 1UNT, muestra única \leq 5 UNT ^b
COMPONENTES INORGÁNICOS		
Ph	6.5 - 9.5	pH bajo: corrosión pH alto: sabor, sensación jabonosa preferiblemente < 8.0 para que la desinfección con cloro sea eficaz

Fuente: Guías OMS 2005
a. Unidad de color verdadero.
b. Unidad nefelometría de turbiedad.

1.5.2.5. ALIMENTO

Los alimentos balanceados aportan una buena consistencia y facilidad de manejo, contiene los requerimientos nutricionales para todas las etapas en la crianza de los animales, pues están complementados con suplementos vitamínicos, minerales, aditivos medicamentosos. Todos los alimentos contienen principios similares en distintas proporciones. Estos principios pueden clasificarse en: (Bello F. Buján M. 2010)

- Agua
- Carbohidratos
- Proteínas
- Aceites o grasas
- Minerales
- Vitaminas

Los carbohidratos.- se componen de carbono, hidrogeno y oxígeno, incluyen almidones, azucares y celulosa. Constituyen la principal fuente de energía y calor del organismo animal y se acumulan en el mismo bajo la forma de grasa.

Las proteínas.- contienen nitrógeno, además del carbono, hidrogeno y oxígeno que forman los carbohidratos, las proteínas son las sustancias de la que el músculo y el pelo se forman y reponen. Las proteínas se elaboran a partir de elementos simples denominados aminoácidos.

Las grasas o aceites.- tiene un valor energético dos veces más elevado que los carbohidratos

Los minerales y vitaminas.- son proporcionados en más bajas cantidades para suplementar los requerimientos que exige el cuerpo del animal para su correcto funcionamiento y desarrollo durante toda su vida.

Los animales de experimentación requieren dietas alimenticias nutritivas y sin contaminación de ningún tipo para suplir sus necesidades fisiológicas y funcionales o de acuerdo al protocolo en el que están siendo empleadas. (Bello F. Buján M. 2010)

Para conservar su calidad microbiológica inicial el alimento debe ser transportado, almacenado y manipulado con el mayor cuidado y asepsia para evitar la introducción de enfermedades, parásitos y vectores potenciales de enfermedades y contaminantes químicos a las colonias animales. (Bello F. Buján M. 2010)

Por esto es aconsejable examinar a los fabricantes, y evaluar cada paso de la cadena producción con énfasis en sus puntos críticos para asegurarnos de la compra de un producto de la calidad e inocuo que es la exigencia en la norma de alimentos para conservar la salud de los animales y que no altere su metabolismo o genere problemas que se van evidenciando con el tiempo y que generan alteraciones en los resultados experimentales. En las fichas de reporte de los alimentos debe constar la fecha de elaboración, caducidad, valor nutritivo, conservación almacenamiento y aspectos que el fabricante requiera esencial e imprescindible mencionar. (Bacon R. et.al 2000)

TABLA 4. PARÁMETROS NUTRICIONALES^a

ESPECIE	CONSUMO DIARIO DE AGUA	EXCRECIÓN DIARIA DE ORINA	ALIMENTACIÓN/DÍA	PROTEÍNAS DIGESTIBLES ^b %
Ratón	3-7 mL	1-3 mL	3-6 g	12
Rata	20-45mL	5-10mL	8-15g	15

Fuente: Consejo Nacional de Investigación NRC Canadá 1995

a. Los valores promedios y rangos tomados de la literatura corresponden a valores medios para animales adultos jóvenes.

b. Refiere a proteínas ideales o digestibles requeridas; los niveles de proteínas brutas (PB) pueden ser considerablemente más altos.

1.5.2.5.1 PROBLEMAS POR UNA ALIMENTACIÓN INADECUADA

Una alimentación inadecuada puede provocar enfermedades y problemas como canibalismo, intoxicación, trastornos digestivos, autofagia del pelo y roedura de las jaulas. (Bello F. Buján M. 2010)

Canibalismo.- Se presenta después del parto cuando el animal ataca y devora a sus crías. Las causas son:

- Sed. Después del parto la hembra padece de sed intensa y cuando no puede obtener agua devora una o varias de sus crías. El canibalismo se evita si el animal tiene agua fresca permanente.
- Deficiencias nutritivas. Se presenta cuando la ración es deficiente en proteínas y calcio. El apetito de la hembra recién parida degenera la llamada hambre de minerales, que la impulsa a devorar sus crías. Se evita suministrando una ración balanceada durante toda la gestación.
- Tensión nerviosa. Se presenta cuando la madre ha sido molestada poco antes del parto o después de éste. En este caso se puede devorar o abandonar a sus crías.

Intoxicaciones.- se puede producir cuando de algún modo en la alimentación se introduce sustancias peligrosas o incluso contaminantes del tipo vegetal.

Trastornos digestivos.- La diarrea es uno de los problemas más frecuentes sobre todo en las crías en destete por el cambio de alimentación por eso es necesario tener mucho cuidado y si se produce este problema hay que vigilar el olor y que el alimento no se encuentre enmohecido o rancio. (Bello F. Buján M. 2010)

Autofagia del pelo.- consiste en que el animal come su pelo o el de sus vecinos y es producido por:

- Disminución de copropagia
- Mala absorción de nutrientes que a su vez se deriva de una mala absorción intestinal por trastornos digestivos,
- Por coccidiosis
- Desequilibrio de la flora intestinal
- Problemas en el hígado.

Roedura de jaulas.- cuando el animal no cuenta con alimento tiende a morder la jaula buscando suplir sus necesidades nutricionales.

1.6 DESCONTAMINACIÓN

Se considera como descontaminación a la actividad de sumergir o rociar el material con una solución de prelavado que es un detergente enzimático. Esto permite la disminución de la biocarga por arrastre y es un paso previo a la limpieza. (Barahona S. 2010)

1.7 LIMPIEZA

Limpieza se denomina al proceso que remueve contaminantes como polvo, grasa o sustancias orgánicas de las superficies. La limpieza puede ser de tipo mecánico, dilución o la acción de un detergente durante un determinado tiempo y las condiciones necesarias para que pueda ser retirado por completo de la superficie que está contaminado. (Arthur T. Bosilevac J. Nou X. Schackelford S. Weller T. 2004).

Las sustancias usadas como agentes limpiadores pueden ser de tipo alcalino o ácido o también puede ser un detergente anfótero, aniónico, catiónico lo importante es que cumplan su función de limpieza que logra con su afinidad con la superficie con la que va a tener contacto para ejercer sobre ella su poder humectante y emulsificante para de este modo arrancar en su totalidad la suciedad y los residuos adheridos existente en la superficie. (Besnard V. Federighi M. Cappelier J. 2000)

En un sistema de limpieza de determinadas áreas es conveniente crear un protocolo de trabajo en donde debe constar la frecuencia, cantidad de trabajo, personal de limpieza, agentes de limpieza y momento adecuado para realizarla, todo esto en conjunto de parámetros nos ayudara a mantener limpia la zona y evitar cualquier altercado y en caso de presentarse se contará con las medidas necesarias para sobrellevarlo oportunamente y con acciones correctivas adecuadas que faciliten el trabajo y corrijan errores. (Angelillo I. Viggiani N. Greco R. Rito D. 2001)

En el caso del alojamiento de animales de laboratorio que es considerado como ambientes estériles es necesario implementar sistemas de limpieza estandarizados que aseguren la calidad microbiológica del ambiente en especial la ausencia de patógenos que pueden provocar enfermedad tanto en los animales como en el personal que trabaja y atiende a estos animales y estos procesos de limpieza además deben estar siempre evaluados ya que cada ambiente es único y requiere sus propias correcciones. (Bello F. Buján M. 2010)

Todo el ambiente que rodea al animal necesita ser limpiado rutinariamente al menos una vez por semana aunque en los casos que lo requiera las veces que sea necesario todo va a depender de la calidad del laboratorio de experimentación animal esto con el fin de eliminar la carga microbiana incluyendo soportes, jaulas, piso, paredes, cercados, equipos, bebederos, El proceso de limpieza va a ser realizado en dependencia de la especie animal que se aloje de la infraestructura y de las necesidades tanto del animal como del ambiente que le rodea Se debe averiguar constantemente la eficacia de los detergentes y desinfectantes a emplear para evitar la resistencia bacteriana que conlleva a la ineficiencia de los agentes limpiadores y desinfectantes. (Besnard V. et.al2000)

No basta solo con limpiar si no también hay que considerar el sistema y la forma de realizarlo, el material de construcción de la infraestructura y su diseño para adoptar las medidas sanitarias adecuadas y oportunas para una correcta limpieza que en verdad disminuya la carga microbiana ya que esta si se hace correctamente puede disminuir la contaminación microbiana hasta en un 90% cuando se realiza adecuadamente tomando en cuenta todos los factores que podrían afectarla y escogiendo el sistema más apropiado de acuerdo a las necesidades. (Beuchat L. 1998)

Los pasos básicos de limpieza son:

- Eliminación de la suciedad más grosera mediante acción mecánica
- Lavado y restregado con detergentes hasta la eliminación de toda la suciedad adherido
- Enjuagado con abundante agua hasta eliminar todo el resto de suciedad pagada y detergente. (Calicioglu M. Kaspar C. Buege D. Luchansky J. 2000)

1.7.1 LAVADO

El lavado es un paso que incluye la limpieza muy útil para eliminar la suciedad, reducir contaminantes que pueden estar adheridos como aceites, grasa, proteínas, glucosa, polvo, minerales, orina, etc. aunque no posee acción germicida si es muy útil durante el proceso de limpieza para mantener ambientes limpios y sin contaminantes al menos de tipo macroscópico que pudiera alterar el equilibrio de asepsia en las áreas del bioterio. Los agentes usados deben cumplir con propiedades como ser humectantes y tensioactivos. En el lavado también se debe considerar el tipo de suciedad, es decir si se trata de proteínas y glucosa se usará agua fría y agua caliente para minerales y grasas. (Boer E. Beumer R. 1999)

Tipos de sustancias limpiadoras:

Abrasivos.- producen un efecto de pulido en la superficie.

Soluciones alcalinas.- arrancan la grasa o cualquier tipo de materia orgánica puede ser soda cáustica o carbonatos.

Detergentes enzimáticos.- son los ideales posee muchas ventajas tales como: descontaminan la materia orgánica, están formados por enzimas, son surfactantes y solubles. A pH ácidos tienen el poder de remover incrustaciones, sarro y óxido, a pH alcalinos actúan removiendo grasas y aceites y a pH neutro evitan la corrosión y son biodegradables.

Surfactantes.- son espumantes rompen la tensión superficial para mayor contacto con la superficie ayudando a eliminar la suciedad por arrastre.

Estabilizantes.- actúa como ablandador evitan la precipitación del agua dura con agentes contaminantes. (Boulongé-Peterman L. 1996)

1.7.2 MODO DE ACCIÓN DE UN DETERGENTE

La molécula de detergente consta de dos partes una parte hidrófila que atrae el agua y la otra parte hidrófoba que atrae la grasa, por esto tiene el poder de reducir la tensión superficial del agua permitiendo la humectación de todas las partes de la superficie sucia. (Boyd R. et.al 2001)

Al separarse las partes positiva y negativa de las moléculas del detergente crean una fuerza eléctrica de repulsión que envuelve las partículas de suciedad formando micelas; éstas poseen la misma carga eléctrica que la superficie por lo cual no corre el riesgo de volver a adherirse, siendo expulsadas en el enjuague. En el mercado hallamos detergentes enzimáticos, con enzimas proteolíticas que eliminan proteínas y materia orgánica su acción es inmediata, son fáciles de enjuagar, no rallan ni deterioran el material a tratar. (Bredholt S. et.al. 1999)

1.7.3. TIPOS DE DETERGENTES

Detergentes aniónicos.- se denominan jabones y se usan en superficies.

Detergentes catiónicos.- son activos contra bacterias vegetativas, hongos no son efectivos como desinfectantes de equipos.

Detergentes anfóteros.- poseen actividad contra bacterias, hongos y virus. Se los utiliza para limpieza o desinfección.

Detergentes enzimáticos.- son bacteriostáticos y limpiadores a base de enzimas, proteasas, etc.; que disuelven sangre, mucosidades, etc. y son biodegradables. (Díaz M. Carreño F. Mosquera L. 2008)

1.8 DESINFECCIÓN

La función de una desinfección es la eliminación de la carga microbiológica presente en un área determinada o en una simple superficie para conservar estándares de calidad. Los métodos de desinfección a escoger van a estar en dependencia de la infraestructura, condiciones internas, material a desinfectar y la relación costo beneficio. Según su nivel de actividad se los divide en:

Bajo.- elimina formas esporuladas, virus no lipídicos y hongos. Son de uso antiséptico.

Intermedio.- elimina bacterias vegetativas, mata al bacilo de la tuberculosis, algunas esporas bacterianas, hongos y virus. Ej. fenoles, hipoclorito de sodio.

Alto.- elimina esporas, hongos y virus. Ej. glutaraldehído, ácido paracético. (Buerget N. et.al2013)

1.8.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA DESINFECCIÓN

Carga microbiana.- Tiene una relación inversa con la desinfección es decir a menor cantidad de microorganismos mas alta será la efectividad del desinfectante usado, razón por la cual se debe lavar bien las manos del operador antes de pasar la solución antiséptica; si se coloca sobre las manos sucia se pierde gran parte de su efectividad. (Caballero A. Lenomin M. 1998)

Materia orgánica.- La existencia de restos proteicos y celulares, pus, etc. porque reaccionan con el desinfectante disminuyendo su concentración y por lo tanto disminuyendo su efectividad sobre las superficies. Por esta razón, es conveniente eliminar cualquier resto orgánico que se halle en la superficie sobre la cual se aplicará la desinfección. (Breeuwer P. Abee T. 2000)

Resistencia.- esta propiedad de la bacterias de resistir a la acción de los desinfectantes mediante una cualidad que desarrollaron llamada adaptación, es un grave problema que ha obligado a buscar otras opciones para lograr el efecto deseado de desinfección efectiva se puede decir que ninguno desinfectante es 100% efectivo sobre todos los microorganismos, debido que son drogas de acción inespecífica y en ocasiones hasta pueden contaminarse si no es correcto su almacenamiento pudiendo desarrollarse en ella microorganismos como es el caso de la *Pseudomona aeruginosa* en Iodopovidona conservada en envases abiertos. (Breeuwer P. Abee T. 2000)

Sustantividad.- Es la propiedad de un desinfectante de permanecer activo en el sitio de aplicación. Se puede medir de dos maneras:

- Tiempo necesario para que la actividad del desinfectante disminuya
- Porcentaje de la actividad desinfectante con relación a la inicial. (Breeuwer et.al 2000)

Número inicial de la población.- Esta relación es directamente proporcional puesto que a mayor número de microorganismos, mayor deberá ser la concentración del agente y su tiempo de exposición al mismo. En este punto, al igual que en la eliminación de materiales extraños, es de gran importancia el lavado de manos para mejorar las condiciones de utilización del agente. (Breeuwer P. et.al. 2000)

1.8.2 SELECCIÓN DEL DESINFECTANTE

Para elegir un desinfectante se deben analizar las siguientes características: (Boulangé-Peterman L. 1996)

- Actividad antimicrobiana
- Ingrediente activo
- Concentración
- Descripción del producto
- Estabilidad
- Ser seguros para las personas y para el ambiente es decir biodegradable
- Tiempo de acción necesario para que cumpla su acción
- Fácil forma de aplicación
- Campo de aplicación amplio
- Cumpla con el objetivo de eliminar microorganismos.
- Amplio espectro y rápida acción
- Activo aun en presencia de materia orgánica.
- No corrosivo y por ende compatible con las superficies
- Costo – beneficio

1.8.3 MÉTODOS DE DESINFECCIÓN

1.8.3.1 MÉTODOS FÍSICOS

Pasteurización.- usando 77° C de temperatura durante aproximadamente treinta minutos, se logra destruir todos los microorganismos excepto las esporas bacterianas. No es útil en el bioterio. (Bagge-Ravn D. et.al. 2003)

Hervido.- Este método se basa en hervir los instrumentos en un recipiente con tapa de 5 a 20 minutos tomando el tiempo desde que el agua rompe el hervor el agua a levadas temperaturas cumple la acción desinfectante. Los instrumentos a desinfectar por este método deben ser cubiertos por completo para lograr su objetivo. Luego se procede a secar al aire o con una toalla esterilizada para evitar contaminación y almacenarlos. (Caro A. et.al. 1999)

Radiación ultravioleta.- Este método funciona en rangos 240-280 para desnaturalizar los ácidos nucleicos de los microorganismos y así eliminarlos, pero su efectividad se ve afectada por elementos como la potencia o suciedad de los tubos ultra violeta, materia orgánica, longitud de la onda emitida, temperatura de exposición, tipo de microorganismos La radiación ultra violeta y por ningún motivo desinfecta ni esteriliza el agua. (Casamada A. 2002)

1.8.3.2 MÉTODOS QUÍMICOS

AGENTES QUÍMICOS

Los desinfectantes de tipo químico se clasifican en: (Castiblanco A. 2006)

ALCOHOL.- Es el desinfecte más usado por su antigüedad, popularidad, economía, y su potencial de acción bactericida y moderadamente fungicida. No tiene actividad frente a esporos, micobacterias y varios tipos de virus, porque su efectividad es rápida pero de corta duración debido que tiene la propiedad de evaporarse Actúa por desnaturalización de proteínas y debe emplearse en solución acuosa al 70% puesto que concentraciones mayores lo que hace es deshidratar a los microorganismos y los conserva en lugar de destruirlos y en el caso de concentraciones menores son ineficaces. (Champiat A. Matas N. Monfort B. Frass H. 2001). Algunas bibliografías sugieren dejar transcurrir 30 minutos en superficies y 2 a 5 minutos en piel. La toxicidad del alcohol isopropílico es dos veces mayor al del etanol. (Chatonnet P. 2007)

ÁCIDOS YODADOS.- Su acción es germicida su amplio espectro abarca bacterias de todos los grupos, hongos, virus e incluso esporas. Su actividad se fundamenta en la yodación de proteínas vitales para los microorganismos por lo que los mata. Su efecto germicida se ve limitado por sangre y otros materiales biológicos es decir material orgánico. La forma más utilizada es en soluciones yodadas y a pesar de su efectividad tienen desventajas porque causa diferentes problemas en el operador tales como: reacciones de hipersensibilidad, irritación del área tratada por el componente de alcohol usado en la tintura, quemaduras en caso de que la solución tenga iodo concentrado a más del 2%, Eosinofilia. (Castillo A. et.al. 1998)

CLORHEXIDINA.- Es un agente activo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, bacterias aerobias, y anaerobias facultativas. Se usa en déficit de iodo, el área a desinfectar debe ser lavada durante por lo menos 2 o 3 minutos y más tarde secada con una toalla estéril. Su actividad se reduce al reducir el pH o con el contacto de material orgánico. (Duque L. 2013)

FORMALDEHÍDO.- Se usa en fase gaseosa y en fase líquida, su efecto es bactericida, tuberculicida y esporicida, pero de acción más lenta que el Glutaraldehído. Se inactiva en presencia de material inorgánico porque se combina rápidamente con las proteínas Para desinfectar objetos metálicos se requiere una concentración de 2 a 8% y funciona mejor en solución alcohólica que en solución acuosa. (Fuentes L 2003)

GLUTARALDEHÍDO.- Es un desinfectante de alto nivel, esterilizante y esporicida. Su actividad depende del pH: siendo las alcalinas más efectivas que las ácidas por lo que comercialmente trae un activador para obtener un pH alcalino. Su principal propiedad es que no se inactivan por la presencia de materia orgánica. Su actividad se basa en la reacción con los grupos amino de las proteínas de ARN y ADN. (Fernández R. 1994). Para conseguir esterilización los instrumentos deben permanecer sumergido durante 20 a 30 minutos para que la solución de glutaraldehído penetre por todo el sistema, posteriormente se debe enjuagarse con agua estéril para evitar emanaciones de vapores. (Días L. et.al. 2010)

HIPOCLORITO DE SODIO.- Es uno de los desinfectantes más antiguos y usados con bacterias Gram positivas y Gram negativas, también es fungistático y viricida. Su acción es de un desinfectante de nivel intermedio. La mínima disociación se obtiene

entre pH 6 y 8 su efectividad se reduce en contacto con materia orgánica fuera de las aguas duras por efecto de la luz y la temperatura. Es corrosivo para metales. (Correderas R. 2008)

Su acción es rápido, por lo cual se necesita solo unos pocos minutos de exposición, con excepción del agua destinada al consumo, en la que se recomienda una exposición relativamente prolongada debido a que se utiliza en bajas concentraciones. Se debe almacenar en lugares con una ventilación adecuada, protegido de la luz y a una temperatura no superior a 30°C y los recipientes deben estar bien cerrados, no exponer a la luz solar. Si se transfiere es menester la utilización de embudos resistentes a la corrosión. (Covos V. 2009)

ÓXIDO DE ETILENO.- Es un desinfectante de acción esporicida, su efecto es por alquilación de ácidos nucleicos de los microorganismos. Para la utilización de este tipo de desinfectantes se debe tener autoclaves y utilizar una temperatura de 58°C durante 4 horas. Tiene la ventaja de ser muy difusible y penetrar gran cantidad de materiales; excepto el polietileno y tampoco difunde cristal, la humedad relativa recomendada es del 30 al 40%. La desventaja de usar del Óxido de Etileno como desinfectante es que es muy inflamable, elimina residuos del gas que pudieran quedar retenidos en los elementos esterilizados, estos residuos son muy irritantes al contacto con la piel y se ha demostrado que es un carcinógeno potencial. (Fuentes N. 2006)

PEROXÍGENOS.- Los peróxidos más representativos y usados son el peróxido de hidrógeno al 3% y el ácido paracético al 40%. El peróxido de hidrógeno al 3% es bactericida y ligeramente esporicida siendo un desinfectante estable y efectivo. Mientras que el ácido paracético es bactericida y se descompone fácilmente en presencia de metales, sales metálicas, calor y agitación; es relativamente estable en presencia de exceso de ácidos. (Girón A. 2007)

YODOFOROS.- Son desinfectantes de amplio espectro se usan como limpiadores de tipo ácidos su efecto es rápido. Para desinfectar superficies limpias, se requiere, una solución de unos 25 a 50 miligramos por litro de yodo disponible a pH 4. Igual que muchos desinfectantes pierden su eficacia con material orgánico notándose una disminución en su color que indica que ha bajado su concentración y por ende se

encuentra alterada su eficiencia. Los yodóforos son corrosivos para los metales y debe tenerse especial cuidado en eliminarlos enjuagando las superficies después de utilizarlos para evitar deterioro en este tipo de superficies. (Girón A. 2007)

COMPUESTOS CUATERNARIOS DE AMONIO.- Son desinfectantes incoloros no corrosivos de los metales y no son tóxicos su actividad es media. Las soluciones se adhieren a las superficies, por lo que se debe enjuagar con abundante agua para eliminarla por completo. Debe utilizarse en concentraciones de entre 200-1200 miligramos por litro. Se necesitan concentraciones más altas cuando se mezclan con aguas duras. No son compatibles con jabones o detergentes aniónicos. (Girón A. 2007)

AGENTES ANFOTEROS TENSOACTIVOS.- Tiene propiedades espumantes y bactericidas no son tóxicos, ligeramente corrosivos por lo que se requiere de un aclaro intenso siempre se debe usar de acuerdo a la normas del fabricante para optimizar su uso y al igual que la mayoría de desinfectantes se inactiva en presencia de material orgánico.

ACIDOS Y ALCALIS FUERTES.- Son eficaces antimicrobianos pueden ser mezclados con otros desinfectantes para potenciar su actividad o lograr pH adecuados para el mejoramiento de la desinfección en distintas áreas que requieren mayor atención por su grado de dificultad, todas las superficies que han sido desinfectadas deberán someterse a un enjuague final con agua. (Girón A. 2007)

FENOL Y COMPUESTOS RELACIONADOS.- se usa comúnmente en sanitarios y cuartos de vestir, evita el crecimiento de hongos, es decir tiene actividad antifúngica pero tiene un alto grado de toxicidad para animales y el ser humano. (Girón A. 2007)

OTROS DESINFECTANTES.- El Nitrato de plata, el Permanganato de potasio, los Fenoles y Cresoles y los antisépticos mercuriales como el timerosal son desinfectantes de actividad medio o bajo que se usan con menos frecuencia y en casos especiales para la desinfección de distintos materiales y equipos. (Girón A. 2007)

1.9 BIOFILM O BIOPELÍCULAS

Los biofilms son comunidades o aglomeraciones de microorganismos que crecen adheridos a una superficie inerte o viva mediante una matriz polimérica que ellos mismos han sintetizado. Ésta es la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza por lo que tiene un gran impacto en nuestra vida, ya que actúan en diversos aspectos tales como el tratamiento de aguas residuales, la corrosión de materiales, la contaminación de alimentos durante su procesamiento en la industria alimentaria, el colapso de tuberías, las interacciones planta-microorganismo en la rizosfera, la formación de la placa dental, el desarrollo de infecciones crónicas sobre tejido vivo (mastitis, otitis, neumonía, infecciones urinarias, osteomielitis) o asociadas a implantes médicos, entre otros. (Fuentes N. 2006)

Un biofilm está constituida por 15% de células y un 85% de matriz extracelular. Esta matriz a su vez está constituida por exopolisacáridos, que son los encargados de formar canales por donde se transporta agua, enzimas, nutrientes, y residuos por esto las bacterias establecen relaciones y dependencias, puesto que mediante estos canales viven, cooperan y se comunican a través de señales químicas, que regulan la expresión de genes de manera diferente en las distintas partes de la comunidad, asemejándose a la expresión genética para el desarrollo de un tejido en un organismo multicelular como el hombre. (Rodríguez A. Delgado M. Dujarric C. 2007)

Para adaptarse los biofilms, las bacterias precisan hacer cambios importantes en su estructura y metabolismo para esto genes y proteínas que se encienden y se apagan durante las diferentes etapas de perfeccionamiento de la comunidad para lograr una sincronización y de este modo fortalecerse y sobrevivir. (Fuentes N. 2006)

Se calcula que el 80% de la biomasa microbiana terrestre se halla protegida dentro de biofilms lo que facilita su supervivencia en el medio ambiente en que se encuentran. En estudios de laboratorio se ha encontrado que los biofilms bacteriano aislado de una amplia gama de ambientes comparten tres características:

- Las bacterianas están alojadas en una matriz polimérica compuesta por exopolisacáridos, proteínas y ácido nucleico.
- La formación de biofilm comienza cuando aparecen señales extracelulares presentes en el medio o producidas por las bacterias.

- El biofilm protege a las bacterias frente a la respuesta inmunitaria del hospedador, la desecación y las sustancias que se usan para destruirlos como antibióticos o desinfectantes.

Cuando una superficie permanece húmeda durante un tiempo suficiente, se forma los biofilms En primera instancia las bacterias se adhieren a la superficie húmeda tomando en cuenta características como si el proceso es activo o inactivo, si las bacterias son móviles o no y de otros factores ambientales, una vez que logran adherirse es sumamente difícil eliminarlos si no se aplica una fuerza mecánica más la acción de un producto químico. (Fuentes N. 2006)

Los biofilms se desarrollan con mayor facilidad cuando cuentan con una fuente continua de nutrientes. Las superficies más comunes a las que se adhiere son: acero inoxidable, el aluminio o el vidrio y también pueden encontrarse en superficies de contacto con alimentos, como juntas, correas transportadoras y grietas. (Fuentes N. 2006)

Al formar un biofilm las bacterias empiezan a agruparse y a crecer para crear microcolonias. Algunas especies bacterianas son más propensas que otras a formar microcolonias, entre estas tenemos a la *Listeria monocytogenes*, una especie que se encuentra en ambientes húmedos y que es difícil de eliminar por completo en áreas de procesamiento de alimentos. Al igual que es común hallar *Pseudomonas* spp. en biopelículas, en el acero inoxidable y otros materiales en contacto con alimentos, y bacterias como la *Bacillus cereus* y *Salmonella* son capaces de sobrevivir a varios desinfectantes si están protegidos por un biofilm. (Fuentes N. 2006)

1.9.1 PREVENCIÓN

Hay que tomar en cuenta que los biofilms son muy difíciles de detectar y que a pesar de usar biocidas en muchas ocasiones estos no resultan 100% efectivos debido a que al encontrarse agrupados tienen menos superficie de contacto con el biocida para que ejerza su acción de sobre las bacterias. Sin embargo aunque los biofilms son muy resistente se pueden tomar medidas para evitar que aparezcan o que se puedan eliminar

- En industrial se puede hacer un análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos para encontrar las debilidades y adoptar los controles adecuados.
- Otra forma de prevenir es implementar un sistema de higienización de las instalaciones, para que se facilite el proceso de limpieza con el uso de los materiales más adecuados, resistentes a la formación de biopelículas.
- El uso de productos químicos de limpieza y desinfectantes es, una de las mejores formas de eliminar biofilms. (Rodríguez A. Delgado M. Dujarric C. 2007)

Al igual que para el hecho de eliminación habitual de bacteria para la eliminación de biofilms es importante tomar en cuenta factores como:

- Agentes de limpieza y desinfección
- Tiempo de exposición
- Temperatura
- Actividad

1.10 ADAPTACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

La resistencia microbiana se da por la existencia de material genético que codifica unos mecanismos para que los gérmenes actúen en contra los antimicrobianas. Es decir que ante la aparición de una sustancia desinfectante se activan regiones del genoma bacteriano, o de plásmidos que se hallan en el citoplasma celular, que incitan mecanismos bioquímicos accesorios o que provocan la aparición de proteínas que reaccionan en contra de las sustancias letales para volverlas ineficaces. Las condiciones que llevan a respuestas de tipo adaptativo se producen porque existen errores en la limpieza y desinfección rutinaria.

1.11 ROTACIÓN DE DESINFECTANTES

Una posible solución a la adaptación de los gérmenes es la rotación entre distintos desinfectantes, que consiste en que cada cierto tiempo, dependiendo de los lineamientos de la institución, el tipo de contaminación y la extensión de la misma, y el criterio del operador se cambia el tipo de desinfectante implantando un ciclo con dos, y preferiblemente tres, productos de desinfección diferentes. (Rodríguez A. Delgado M. Dujarric C. 2007)

Sin embargo hay evidencia que a pesar de crear estos ciclos de rotación hay la presencia de una adaptación cruzada la cual incrementa la supervivencia del microorganismo pero este tipo de adaptación no parece deberse a respuestas genéticas específicas, sino a cambios celulares inespecíficos, Sin embargo es la alternativa que se posee actualmente para disminuir la contaminación y evitar que se formen biofilms. (Rodríguez A. Delgado M. Dujarric C. 2007)

1.11.1 EFECTOS DEL MAL USO DE LOS DESINFECTANTES

El poder desinfectante de un producto varía entre cepas adaptadas y persistentes en las superficies en relación a las que no están adaptadas Mediante estudios se ha demostrado que tras una exposición subletal de 2 horas, la concentración necesaria para destruir a la *Listeria monocytogenes* su adaptación se incrementa en 3 veces, por ende se hace evidente que los tiempos de contacto breves, los desinfectantes a concentraciones subletales o a tiempos insuficientes inducen cambios en las estructuras celulares que solo llevan a respuestas de tipo adaptativo. (Quiles A. Hervia M. 2005)

En consecuencia si en la higienización tanto el tiempo de contacto como la dosificación del desinfectante son insuficiente no sólo se facilitará una disminución en la eficacia del desinfectante, sino que además se proveerá la adaptación de los gérmenes a situaciones que aumentarán el peligro de la presencia de patógenos. (Quiles A. Hervia M. 2005)

Otro problema observado que las cepas adaptadas a la presencia de concentraciones subletales de desinfectantes también son resistentes a todos los productos con el mismo modo de acción y por lo tanto el efecto de supervivencia se incrementa aún más.

La única recomendación existe en cuanto a desinfectantes se refiere es un buen empleo de los mismos, a concentraciones adecuadas y en las condiciones que indique el fabricante sin diluir excesivamente los productos químicos y dejarlos actuar el tiempo necesario y tampoco usar siempre el mismo desinfectante, sino ir variando habitualmente con el fin de impedir que se ocasionen fenómenos adaptativos cruzados entre sustancias que siendo desiguales, tengan el mismo principio de acción. (Quiles A. Hervia M. 2005)

1.12 ESTERILIZACIÓN

Proceso mediante el cual se elimina la contaminación microbiológica en un 100%. (Pérez D. Veras A. 2008). Los factores que influyen en la calidad de la esterilización son:

Número de microorganismos.- Si existe mayor número de microorganismos más tiempo requerirá la esterilización pudiendo convertirse en un grave problema que puede resultar en una reducción de tan solo el 90% de la contaminación microbiana. (Pérez H. Sánchez V. 2010)

Tiempo. Se requiere de 30 minutos y una temperatura de 121° C con una presión de 15 PSI para que se elimine todas las esporas bacterianas. Es usado como valor de referencia en la evaluación de los métodos de esterilización. (Pérez H. Sánchez V. 2010)

Temperatura. Al aumentar la temperatura de esterilización se logra la muerte de los microorganismos aumenta la efectividad durante el proceso. (Pérez H. Sánchez V. 2010)

Humedad relativa (HR). Al incrementar la humedad relativa, aumenta el contenido de agua en las células o esporas por lo que se logra un mejor y más rápido resultado final de esterilización. (Pérez H. Sánchez V. 2010)

1.13 TÉCNICAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE ÁREAS

Existen dos tipos de limpieza y desinfección que se realiza en las áreas:

- **Rutinaria.-** es aquella que se lleva a cabo de forma permanente y diaria.
- **Terminal.-** Es aquella que se realiza en forma minuciosa requiere mayor tiempo y mayor cuidado porque se realiza en periodos de tiempo más largos en los que puede haber gran proliferación bacteriana se debe realizar de acuerdo a los protocolos internos establecidos o si las situaciones lo ameritan máximo una vez a la semana o si las condiciones del área lo requieran. (Gómez M. 2001)

1.14 REQUISITOS PARA LA LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

- Usar un paño húmedo en la limpieza haciendo una remoción mecánica de la suciedad de las paredes y los suelos para impedir que se disemine el polvo o se produzcan aerosoles.
- Limpie primero las instalaciones que sean más altas y de ahí, siga limpiando hacia abajo para que la suciedad caiga al piso y pueda ser más fácilmente recogida, se debe seguir un orden primero se debe proceder a limpiar las lámparas del techo, después las mesas, luego los estantes, y como último el piso, así evitaremos saltarnos la limpieza de alguno.
- Utilizar un paño de limpieza diferente para las superficies frecuentemente tocadas porque estas son las de mayor contaminación.
- Usar trapeadores y paños limpios para cada área y cada vez que se va a limpiar para evitar contaminación cruzada y deben ser lavados después de cada uso.
- No utilizar escobas ni plumeros para que se diseminen los microorganismos presente en el polvo.
- Utilizar los elementos de protección individual con el fin de asegurar la salud del operador (Gonzales A. 2007)

1.15 LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES AMBIENTALES

Los microorganismos necesitan condiciones adecuadas para desarrollarse, las bacterias Gram positivas proliferan fácilmente en ambientes secos, en ambientes sucios y húmedos proliferan los bacilos Gram negativos, y los hongos crece y desarrollan fácilmente en materiales fibrosos y húmedos sin luz; al reunir todas las condiciones las áreas se convierten en focos de infección por eso es necesario limpiarlas con frecuencia de cualquier contaminante existente principalmente del polvo ya que en condiciones favorables los microorganismos proliferan rápidamente. (Gonzales J. Rodríguez M. 2006)

La limpieza debe preceder siempre a la desinfección ya que facilitan su acción, sin una correcta limpieza se pierde la eficiencia de acción de los desinfectantes. (Guamán A. 2013)

La limpieza y desinfección debe ser en orden de prioridades las que tienen un contacto mínimo con las manos como. techos y los pisos pueden tener una limpieza menos frecuente en tanto las que están en contacto frecuente con las manos como las perillas de las puertas, las jaulas, interruptores de la luz, deben ser limpiadas y desinfectadas con más continuidad porque las manos son una gran fuente de contaminación cruzada, por lo que hay que lavarnos y desinfectarnos continuamente. (Hidalgo A. 2010)

La limpieza y desinfección de las superficies tiene por objetivo proteger la salud de los animales y del operador que están expuestos constantemente a padecer cualquier tipo de enfermedad relacionado con el ambiente insalubre del bioterio, por eso todo debe ser limpiado y desinfectado desde lo mínimo hasta lo máximo incluyendo el material de aseo.(Jiménez R. 2000)

Las soluciones usadas para la limpieza y desinfección al ser preparadas suelen contaminarse casi inmediatamente, por esto se hace uso de dos baldes con soluciones para ayudar con el reemplazo de las soluciones pues si continuamos usando la misma que solución contaminada no limpiamos más bien realizamos una contaminación cruzada y debido a esto es de gran ayuda preparar una solución para cada tipo de superficie y esta va a tener contacto solo con un medio para no trasferir contaminantes. (Labora F. 2012)

Luego de cada uso de los materiales de aseo se deben lavar y desinfectar para dejarlos secarse evitando así que estos permanezcan húmedos y el lugar de servir como ayuda en la limpieza pueden convertirse en los principales contaminantes porque los microorganismos que en ello se encuentran y han proliferado se van a trasferir a las sustancias limpiadoras y desinfectantes y luego a las superficies que van a ser limpiadas. Para la desinfección es muy útil usar hipoclorito de 1000 ppm de concentración durante 30 minutos y secar manteniéndolos colgados en un perchero con la mecha hacia abajo antes de volver a utilizarse, esto reducirá el riesgo de contaminación cruzada. No almacenar las soluciones ya preparadas durante largos periodos de tiempo porque estos pierden su actividad o función y se convierten en reservorios de microorganismos como bacilos Gram. Negativos como. *Pseudomonas* spp. Y *Serratiamarcescens*. (Labora F. 2012)

Para evitar contaminación cruzada se recomienda:

- Preparar la cantidad necesaria de solución de limpieza y desinfección para cada superficie en el aseo diario para evitar contaminación y desperdicio.
 - Descartar residuos de las soluciones preparadas que no se alcance a consumir porque pierden eficacia y solo sirven de reservorio.
 - Lavar el recipiente para preparar la solución de limpieza con detergente y acción mecánica persistente, enjuagar con abundante agua, desinfectamos y dejamos secar así tenemos un recipiente limpio y listo para usar.
 - El uso de atomizadores es útil para aplicar detergentes y desinfectantes en las superficies pero luego se debe usar un paño limpio que generen mínimo aerosol.
- (Montañez V. 2013)

TABLA 5. FRECUENCIA DE LIMPIEZA RUTINARIA

CLASIFICACIÓN DE LAS ÁREAS	FRECUENCIA MINIMA
Áreas Críticas	3 por día, día y horario preestablecido y siempre que sea necesario
Áreas No Críticas	1 por día, día y horario preestablecido y siempre que sea necesario
Áreas Semicríticas	2 por día, día y horario preestablecido y siempre que sea necesario
Áreas Comunes	1 por día, día y horario preestablecido y siempre que sea necesario
Áreas Externas	2 por día, día y horario preestablecido y siempre que sea necesario

Fuente: Guía de limpieza y desinfección Metrosur

1.16 CONTROL DE PLAGAS

Las plagas son un grave problema en un bioterio afectan la salud, estabilidad y comodidad de los animales por lo que debe tener programas para prevenir, controlar o eliminar su existencia. El control del programa de aseguramiento debe ser calendarizado y documentado para evitar la entrada y colonización de plagas. (Rodríguez A. et.al 2007)

Para hacer uso de pesticidas en el control de plagas hay que tomar en cuenta que éste tienen efectos tóxicos en los animales de laboratorio por eso su uso debe ser limitado y muy bien planeado para cuidar la salud y el bienestar de los animales y así no provocar variaciones en los resultados experimentales. Antes de usar cualquier pesticida se debe analizar cuidadosamente su composición, para que se va a emplear y si puede ser reemplazado por uno de menor toxicidad que logre el mismo efecto plaguicida, y tomando en cuenta la relación costo- beneficio. (Rodríguez A. et.al 2007)

1.17 ELIMINACIÓN DE DESECHOS

Los desechos pueden ser de tipo convencional, biológico y peligrosos para lo cual se debe tomar en cuenta antes de ser eliminados para adoptar la forma más segura de hacerlo. Se garantiza la seguridad a la hora de la eliminación de los desechos, cumpliendo a cabalidad con los reglamentos internos para evitar cualquier tipo de accidente o percance que ponga en peligro la salud del operador. (Rodríguez A. et.al. 2007)

Los basureros para la recolección de desechos dentro de las instalaciones deben estar presentes en número suficiente, correctamente identificados, y distribuidos estratégicamente en todas las áreas, no tener fugas, estar provistos con tapas que cierren herméticamente, con bolsas interiores en los contenedores para facilitar el transporte de los desechos y el lavado y desinfección de estos contenedores y además lavarlos con frecuencia sin correr riesgo de adquirir una enfermedad. (Rodríguez A. et.al. 2007)

Para eliminar animales muertos y desechos de tejido animal se debe almacenar en frío el, para ello conveniente contar con un almacén refrigerado que este aislado de otros refrigeradores, manteniéndolo a una temperatura por debajo de 7° C para reducir el proceso de putrefacción de los desechos y cadáveres y con su rotulado claro. Los desechos peligrosos deben ser seguros antes de ser eliminados por eso se debe usar el método más apropiado elegido por el operador. (Rodríguez A. et.al. 2007)

1.18 CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD

Esta clasificación por grupos de riesgo se toma en cuenta solo para el trabajo de laboratorio. (Soto T. et.al 2009)

TABLA 6. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS INFECCIOSOS POR GRUPOS DE RIESGO

CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS INFECCIOSOS POR GRUPOS DE RIESGO	
Grupo de riesgo 1 (riesgo individual y poblacional escaso o nulo)	Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.
Grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo)	Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el

Grupo de riesgo 3
(riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo)

Grupo de riesgo 4
(riesgo individual y poblacional elevado)

laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Fuente: Manual de bioseguridad en el laboratorio OMS 2005

Cuando en una experimentación biomédica de un tratamiento o de una patología es necesario aplicar agentes patógenos, debemos tomar en cuenta los siguientes factores: los volúmenes y las concentraciones del patógeno que se va a usar y la vía de inoculación.

Mientras que los animales de experimentación que se van a utilizar en el laboratorio, debe tener las siguientes características:

- El carácter de los animales, es decir, su grado de agresividad y tendencia a morder.
- Sus endoparásitos y ectoparásitos naturales.
- Las zoonosis a las que son susceptibles.

1.19 ZOONOSIS

Se les conoce así a las enfermedades que pueden ser transmitidas por los animales al hombre, esto se produce porque la enfermedad en el animal es asintomática es decir son portadores pero en el hombre produce el cuadro clínico de la enfermedad.. (Pérez I. Pérez N. Zurita I. 2010)

Estas enfermedades se clasifican en:

a) Enfermedades infecciosas.- son las producidas por bacterias, clamidias, virus u hongos, que se transmiten cuando el operador está en contacto directo con el animal, sus secreciones que, material fecal, orina, por contacto con los pelos; manipulación de las camas, bebederos, comederos y por partículas suspendidas en el aire en forma de aerosoles. (Pérez I. Pérez N. Zurita I. 2010)

b) Enfermedades parasitarias.- Los parásitos pueden ser externos o internos dependiendo su lugar de ubicación de una sola célula como los protozoos o de muchas células como los metazoarios; pueden poseer forma de gusano chato como los platelmintos o de gusanos redondos como los nematodos; pueden tener patas como los artrópodos. (Pérez I. Pérez N. Zurita I. 2010). (Quiles A. Hervia M. 2005)

Las causas de transmisión son:

- Falta de higiene: lavado de manos antes y al finalizar el trabajo.
- Falta de protección adecuada: guantes, gorros, calzado adecuado, etc.
- Heridas o erosiones ocasionadas por animales o elementos cortantes. (Suanca D. 2008)

1.19.1 PREVENCIÓN

La forma más eficaz para prevenir cualquier enfermedad transmisible, es estar informado de los peligros a que nos rodean en nuestra área de trabajo, siempre tener cuidado en la limpieza de las áreas puesto que ningún antiséptico ni desinfectante actúa donde hay suciedad. (Tello O. 2009)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo implementa y analiza un sistema de limpieza y desinfección de las áreas de mantenimiento y maternidad del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, sus instalaciones, el reactivo biológico o animales para experimentación que se alojan en el lugar, las rutinas de mantenimiento y legislación que rige su funcionamiento.

El Bioterio tiene un área de 100m² aproximadamente y aloja a 30 ratones *Mus musculus* y 47 ratas *Rattus norvegicus* que se encuentran alojados en áreas aisladas las mismas que cuentan con estantes jaulas comederos y bebederos individuales para su comodidad.

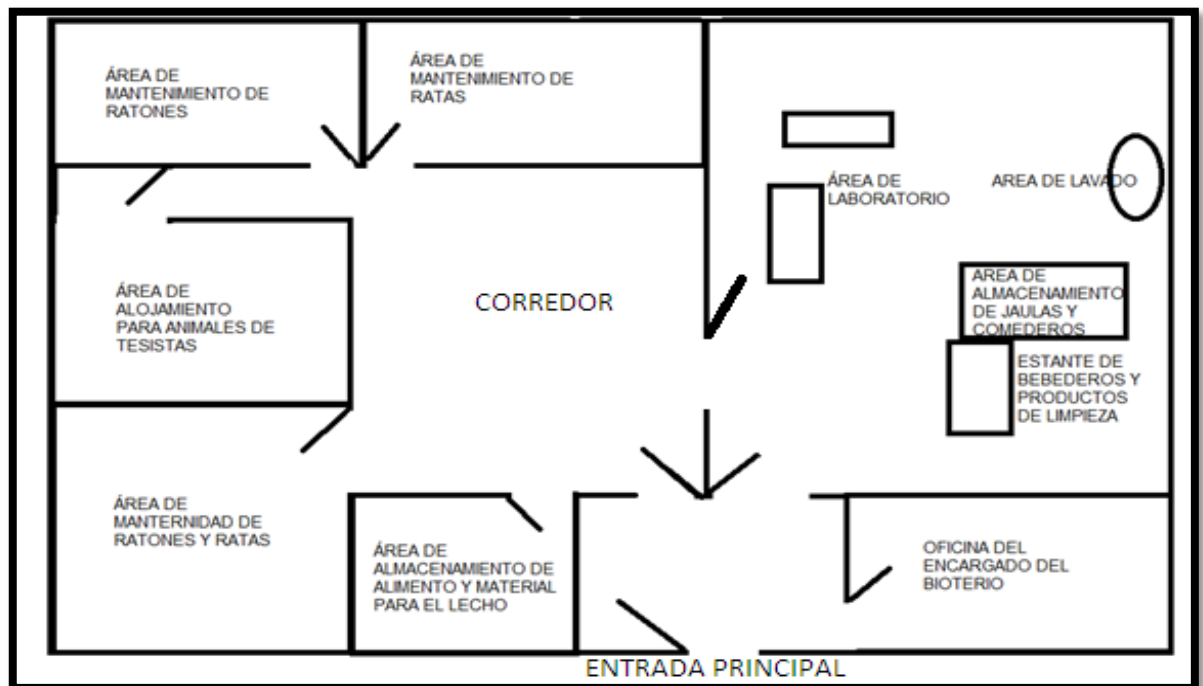


FIGURA 1. CROQUIS DEL BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

2.2 METODOLOGÍA DE TRABAJO

2.2.1 ASPECTOS DE LA METODOLOGÍA

Se aplica una metodología científica y experimental que va a constar de un análisis microbiológico que nos ayudará a identificar la presencia de microorganismos en el macro y microambiente y su posterior conteo para evaluar la eficacia del sistema de limpieza y desinfección que se quiere implantar.

2.2.2 PLANIFICACIÓN

Se tomará muestras al azar de todos los componentes del macro y microambiente incluyendo a los animales que se planea evaluar.

Macroambiente

- **Temperatura:** recopilación de datos dos veces por día (09h00 y 17h00), durante todo el mes de enero del 2014 en las áreas de mantenimiento y maternidad de ratas y ratones.
- **Humedad relativa:** recopilación de datos dos veces por día (09h00 y 17h00), durante todo el mes de enero del 2014 en las áreas de mantenimiento de ratas y maternidad.
- **Estanterías:** toma de muestras de todas las divisiones de las 7 estanterías antes y después de la limpieza y desinfección.
- **Pisos:** se toman muestras de los tres pisos de las áreas de mantenimiento y maternidad de las ratas y ratones.
- **Paredes:** se toman muestras de todas las paredes que conforman las áreas de mantenimiento y maternidad de ratas y ratones.
- **Ventanas:** se analizaron todas las ventanas de cada una de las áreas.
- **Puertas:** se analizaron las tres puertas de las áreas.
- **Aire:** el bioterio cuenta con un área de 100m² aproximadamente de las cuales se tomaron muestras del aire del área de mantenimiento de ratones, ratas y de maternidad la cual se analiza a través de un examen microbiológico.

Microambiente

- **Jaulas:** existen 30 ratones entre machos y hembras distribuidos en 26 jaulas y 47 ratas entre machos y hembras que se encuentran distribuidas en 43 jaulas de las cuales se tomara una muestra de 20 jaulas en total para comprobar la contaminación microbiana de las mismas.
- **Comederos:** cada una de las jaulas cuenta con un comedero propio de los cuales se toma 20 para el análisis microbiológico.
- **Bebederos:** se tomaron 20 bebederos para el análisis microbiológico antes y después de la limpieza y desinfección.
- **Tapones de los bebederos:** se analizaron 20 tapones con el fin de evaluar la calidad microbiológica antes y después de la limpieza y desinfección.
- **Lecho:** el aserrín correspondiente al lecho fue tomando muestras al azar de los sacos que lo contiene mismo que fueron analizados antes y después del cernido.
- **Agua:** se toma muestras de agua de 2 puntos obtenida tanto del grifo del área de lavandería antes y después de añadir el cloro, del agua destilada antes y después de añadir el cloro.
- **Alimento:** se toma cuatro muestras del alimento sellado, los pellets en uso, del alimento distribuido en los comederos de los animales antes de la limpieza y desinfección de los comederos y alimento distribuido en los comederos después de su limpieza y desinfección.

Animales para experimentación

- Población.- El bioterio de Escuela de Bioquímica y Farmacia cuanta con 130 animales para experimentación entre ratones *Mus musculus* y ratas *Rattus norvegicus* de genética desconocida y sin codificación.
- Muestra.- 18 animales, 9 ratones y 9 ratas de diferentes colonias, escogidas completamente al azar con las siguientes características. 3 animales adultos de 9 meses, 3 animales jóvenes de 3 meses y 3 animales de destete para ambas especies respectivamente para el análisis de ectoparásitos.

2.2.3 EJECUCIÓN

2.2.3.1 CONTROL DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA

Se procede a la recopilación de datos dos veces por día (09h00 y 17h00), tanto para la temperatura como para la humedad relativa durante todo el mes de enero del 2014. Para lo cual usamos un Termómetro de interior o termo higrómetro con lectura de humedad relativa que cuenta con las siguientes características:

- Fácil operación.- muestra la temperatura y medición de la humedad relativa automáticamente.
- Lectura libre de errores.- sistema de pantalla digital que asegura una medición clara y libre de errores de un vistazo.
- Compensación de lectura.- asegura una medición correcta de la humedad relativa sin afectar los cambios de temperatura.
- Indicador del confort.- el indicador del confort le hace saber cuándo el ambiente está a un nivel ideal tanto para la humedad relativa como para la temperatura.
- Montaje.- montaje en la pared.

2.2.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AMBIENTE

El bioterio cuenta con un cuarto de mantenimiento para ratones con un área de 7.5m^2 , un cuarto para mantenimiento de ratas con un área de 7.5m^2 , y un cuarto del área de maternidad tanto para ratas como para ratones con un área de 7m^2 , los mismos que se analizaron a través del Método de sedimentación o caída en placa que consiste en evaluar las colonias microbianas que por efecto de la gravedad se depositan en la superficie solidificada del medio de cultivo.

Materiales

- Placas de agar sangre, PCA, Mac conkey y Sabouraud
- Incubadora a 35°C
- Incubadora a 28°C

Procedimiento

1. Las placas se colocan en un área a una altura de 1m del suelo y a 1m de distancia de cada obstáculo.
2. Dejar las cajas abiertas durante 1 hora.
3. Incubar las placas de agar sangre y PCA durante 48 horas a 35°C, las cajas de agar mac conkey 24 horas a 35°C y las cajas de agar sabouraud 5 días a 28°C.
4. Contar las colonias desarrolladas.
5. Calcular el valor medio de las placas colocadas al mismo tiempo y en el mismo ambiente. (Buenaño V. 2010)

2.2.3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES (ESTANTERIAS, JAULAS, COMEDEROS, PISOS, PAREDES, VENTANAS Y PUERTAS)

Para el análisis se realizó el examen microbiológico de superficies, para esto se tomó muestras de todas las divisiones de los 7 estantes que se encuentran distribuidos en las áreas de mantenimiento y maternidad. Se tomó también muestras de 20 jaulas en las que se alojan los animales de experimentación y sus respectivos comederos, además de cada uno de los pisos, paredes, ventanas y puertas presentes en cada uno de los cuartos de mantenimiento y maternidad antes y después de la limpieza y desinfección de los mismos para de este modo comprobar su contaminación microbiana.

Materiales

- Plantilla de papel de 10 cm² para toma de muestras
- Tubos con tapa rosca con 10mL de agua de peptona al 0.1%
- Tubos con tapa rosca con 9mL de agua de peptona al 0.1%
- Hisopos de algodón estériles de 12 a 15 cm de largo
- Placas Petri estériles
- Agar PCA, Ogy y Mac conkey
- Pipetas de 2mL y 1mL
- Incubadora a 35°C
- Incubadora a 28°C
- Lámpara de alcohol

Procedimiento

1. Remover el hisopo estéril en la solución, presionar contra las paredes para desechar el exceso.
2. Colocar la plantilla en la superficie elegida, frotarla con el hisopo húmedo, rotando y haciendo trazos en sentido horizontal, vertical y diagonal, sumergir el hisopo contaminado en el tubo con la solución, agitar de abajo hacia arriba 10 veces, dejar reposar 3 minutos.
3. Frotar 4 áreas adicionales de 10cm^2 , enjuagar el hisopo después de cada barrido.
4. Agitar los tubos con las soluciones contaminadas contra la palma de la mano.
5. Realizar diluciones de la muestra 1mL en el tubo 1 con 9 mL de agua de peptona, 1 mL del tubo 1 pasamos al tubo 2 con 9 mL de agua de peptona y sucesivamente hasta el número de diluciones que se elija.
6. Conforme se preparan las diluciones ir pipeteando por duplicado en las placas Petri estériles alícuotas de 1mL de las diluciones escogidas para la siembra.
7. Verter inmediatamente en las placas Petri 10 a 15 mL del medio de cultivo.
8. Mezclar el inóculo con el medio fundido con movimientos de vaivén mover las placas 5 veces en una dirección, luego repetir 5 veces el movimiento en dirección que forme ángulo con la primera, girar 5 veces en sentido de las agujas del reloj y 5 veces en sentido opuesto.
9. Girar la placa 10 veces efectuando la figura del número 8.
10. Luego de solidificar el agar invertir las placas.
11. Para las cajas de agar PCA incubar a 35°C durante 48 horas, las cajas de Mac Conkey incubar a 35°C por 24 horas y las cajas de agar Ogy incubar a 28°C durante 5 días.
12. Contar las colonias y reportar por 10cm^2 . (Fuster N 2006)

2.2.3.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BEBEDEROS

Para este análisis se tomó una muestra de 20 bebederos con sus respectivos tapones de un total de 100 bebederos existentes en el bioterio. Las muestras fueron tomadas antes y después de su respectiva limpieza y desinfección para de este modo comprobar la eficacia de estos procesos.

Materiales

- Pipetas de 5mL
- Placas petri estériles
- Agar PCA, Mac conkey, Ogy
- Caldo Letheen
- Incubadora a 35°C
- Incubadora a 28°C

Toma de muestras

1. Tomar los envases seleccionados para el análisis y adicionarles 20mL de caldo letheen a cada envase.
2. Agitar vigorosamente permitiendo que el caldo contacte con las paredes del envase y con el tapón del mismo.

Procedimiento

1. Recuento de aerobios mesófilos

5mL del caldo del enjuague inocular en 3 placas petri, adicionar agar PCA estéril enfriado a 45°C, mezclar, dejar solidificar, agregar una capa sellante de agar e incubar a 35°C durante 48 horas. Contar las colonias.

2. Recuento de coliformes totales.

5mL de caldo de enjuague inocular en 3 placas petri, adicionar agar Mac Conkey fundido a 45°C, mezclar, dejar enfriar y agregar una segunda capa de agar. Incubar a 35°C por 24 horas. Contar las colonias.

3. Recuento de Mohos y Levaduras

5mL de caldo de enjuague inocular en 3 placas petri, adicionar Ogy agar fundido a 45°C, mezclar, dejar enfriar y agregar una segunda capa de agar e incubar a 28°C durante 5 días. Contar las colonias. (Llorca I. 2012)

2.2.3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA

Las muestras para este análisis fueron tomadas de 3 puntos, el primero es del grifo ubicado en el área de lavado del bioterio que es el único que suministra el agua para la limpieza del mismo, el segundo fue tomado del recipiente que contiene el agua destilada destinada a la bebida de los animales. Estas muestras fueron analizadas antes y después de la adición de una concentración de cloro apropiada para su purificación obtenida mediante cálculos y el tercer punto fue tomado del agua que ya se encuentra dispuesto en los bebederos de los animales.

Materiales

- Envases de vidrio estériles
- Aparato necesario para el filtrado al vacío
- Discos del filtro de vidrio de 47 mm
- Soporte del filtro de membrana
- Frasco del filtro de 500 mL
- Bomba de vacío operada a mano
- Bomba de vacío portátil de 115 V
- Bomba de vacío portátil de 230 V
- Placas petrifilm para coliformes, aerobios mesófilos, mohos y levaduras.
- Ampolletas para coliformes totales y fecales
- Lámpara de alcohol
- Pipetas estériles de 1mL
- Incubadora a 35°C
- Incubadora a 28°C

Toma de muestras

1. Limpiar el grifo

Retirar cualquier cosa que se le haya adherido o acoplado, que pueda causar salpicaduras. Frotar la boca de salida con una tela limpia para quitar cualquier suciedad que pueda existir.

2. Abrir el grifo

Dar una vuelta a la llave hasta que alcance su flujo máximo y dejar correr el agua durante 2-3 minutos.

3. Esterilizar el grifo

Esterilizar con una llama encendida de una lámpara de alcohol.

4. Abrir el grifo

Luego de abrir el grifo dejar fluir el agua durante 1-2 minutos con flujo medio.

5. Abrir un frasco estéril

Desatar la cinta adhesiva que ajuste la cubierta de papel, retirar el tapón el cual continúa protegido por el papel tratando de no contaminarlo.

6. Llenar el frasco

Mantener la tapa y su cubierta hacia abajo, tomando el frasco por su base ponerlo debajo del chorro de agua y llenarlo hasta un volumen de 100 mL de agua, procurando dejar un espacio de aire de $\frac{1}{4}$ del volumen del recipiente para facilitar la agitación de la muestra. Colocar el tapón en el frasco fijando la cubierta protectora de papel.

Procedimiento

Filtración de membrana con bomba al vacío

1. Utilizando pinzas, coloque un papel filtrante dentro del soporte del filtro.
2. Coloque el conjunto del soporte del filtro en los frascos de filtrado. Humedezca el filtro con agua des-ionizada para asegurar la adhesión al soporte.
3. Coloque la caja del embudo en el soporte del filtro.
4. Mientras aplica el vacío al frasco de filtrado, transfiera la muestra al aparato de filtrado.
5. Libere lentamente el vacío del frasco de filtrado y transfiera la solución desde el frasco de filtrado a otro contenedor.
6. Tomamos 1mL de muestra con una pipeta estéril.
7. Levantamos la hoja de la cubierta del petrifilm y aplicar suavemente la muestra en el centro del círculo rosado.
8. Remover suavemente la placa de lado a lado para distribuir uniformemente la muestra.
9. Colocar el petrifilm sobre una base plana.
10. Incubar a 35°C durante 24 horas.
11. Realizar el conteo de la colonias (NTE INEN 1108 2011)

2.2.3.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO

Se tomaron cuatro muestras del alimento la primera fue del alimento sellado, la segunda fue del alimento abierto y en uso, el tercero fue tomado de los comederos de las jaulas antes de la limpieza y desinfección de este modo podremos identificar en que momento sucede la contaminación de los pellets.

Materiales

- Bolsas plásticas estériles o envases de vidrio estériles
- Pinzas estériles
- Balanza analítica
- Agua de peptona 0.1%
- Petrifilm para coliformes, aerobios mesófilos, mohos y levaduras

Procedimiento

1. Tomar una muestra representativa del alimento en una bolsa estéril y cerrarla.
2. Colocar en una bolsa estéril 10g del alimento y añadirle 90ml del agua de peptona 0.1% mezclar.
3. Tomar exactamente 1mL de la dilución 1:10 con una pipeta estéril.
4. Levantar la hoja de la cubierta de la placa y aplicar suavemente la muestra en el centro del círculo rosado.
5. Remover suavemente la placa de lado a lado para distribuir uniformemente la muestra.
6. Colocar la placa sobre una superficie plana.
7. Incubar a 35°C durante 24 horas.
8. Realizar el conteo de las colonias. (Canadian Council on Animal Care)

2.2.3.7. COLORACIÓN DE GRAM

1. Hacer un frotis.
2. Fijar el frotis con calor y dejar enfriar.
3. Cubrir el frotis con cristal violeta por 1 minuto.
4. Lavar con agua de chorro, eliminar el exceso de agua
5. Cubrir el frotis con lugol para Gram por 1 minuto.
6. Lavar con agua de chorro.

7. Decolorar con alcohol acetona por 20-30 segundos.
8. Lavar con agua de chorro.
9. Cubrir con safranina el frotis por 30 segundos.
10. Lavar con agua de chorro.
11. Dejar secar al aire y observar al microscopio con objetivo 100x.

2.2.3.8 PRUEBAS BIOQUIMICAS DE IDENTIFICACIÓN

PRUEBA DE LA CATALASA

La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas. El peróxido de hidrógeno es uno de los productos finales del metabolismo oxidativo de los carbohidratos y si se acumula es letal para el microorganismo. Esta prueba es de vital importancia en la diferenciación de *Streptococcus* (catalasa negativa) y de los *Staphylococcus* (catalasa positiva).

Reactivo: Agua oxigenada al 3%

Procedimiento

1. Tomar con el asa una colonia de 24 horas y depositarla sobre un portaobjetos.
2. Añadir con una pipeta o un gotero una gota de agua oxigenada al 3%

Interpretación de los resultados

Se considera la prueba positiva cuando se observa desprendimiento de burbujas de gas (O₂) (Álvarez M. Boquet 1995)

FERMENTACIÓN DE MANITOL

Es una prueba útil en la identificación de *Staphylococcus aureus* debido a que el agar Chapman manitol es un medio selectivo para su aislamiento, sirve como medio diferencial de cepas fermentadoras del manitol con *Staphylococcus aureus* que en condiciones anaerobias es la única especie del género que produce la citada fermentación cambiando el color del agar de rosa a color amarillo. (Álvarez M. Boquet y colaboradores 1995)

PRUEBA CON AGAR HIERRO DE KLIGLER

Es un medio utilizado preferentemente para la diferenciación de *Enterobacteriaceae*. En este se puede determinar las fermentaciones de los hidratos de carbono (glucosa y lactosa), la producción de gas y sulfuro de hidrógeno.

Medio de cultivo: agar hierro kligler

Inoculación

Con una aguja de inoculación se toma una colonia aislada y se siembra por picadura hasta unos 0.6cm del fondo. Se retira la aguja siguiendo el mismo camino de entrada y sin volver a cargar el asa se siembra en estría la superficie del pico de flauta.

Incubación

Incubar a 35-37°C durante 18 a 24 horas. Es importante respetar estos tiempos de incubación, ya que lecturas de menor a mayor incubación pueden dar resultados falsamente positivos o negativos.

Interpretación de resultados

Se tendrá en cuenta los siguientes aspectos:

- a) **Producción de ácido a partir de glucosa.-** Se pone de manifiesto en la parte inferior del medio al producirse un cambio de color debido al viraje del indicador de pH que pasa de rojo-naranja a amarillo (ácido).
- b) **Producción de ácido a partir de lactosa.-** Se aprecia por un cambio de color de rojo-naranja a amarillo en la parte del pico de flauta del medio.
- c) **Producción de gas a partir de la glucosa.-** Los gases producidos son el CO₂ y el H₂ productos terminales del metabolismo de la glucosa que se aprecia por la aparición de burbujas en la parte inferior del medio, por una producción de grietas en su interior e incluso por una elevación del medio que se separa del fondo.

d) Producción de gas sulfhídrico.-Se manifiesta por un ennegrecimiento del medio en la línea de inoculación o sobre la capa superficial. En cultivos de bacterias muy productoras de SH_2 a veces llega a ennegrecer todo el medio, ocultando la reacción ácida de la parte inferior del medio (tubo), pero si se ha formado SH_2 es que existe una condición ácida en esa zona por lo que se considera el resultado de la producción de ácido a partir de la glucosa como positivo. (Álvarez M. Boquet y colaboradores 1995)

PRODUCCIÓN DE INDOL

La prueba del indol determina la capacidad de las bacterias de degradar el triptófano dando indol. Algunas bacterias, gracias a la enzima triptofanasa hidrolizan el aminoácido, dando indol, ácido pirúvico y amoníaco. La presencia de indol se detecta observando la formación de una coloración rosa-roja en el medio al añadir paradimetilaminobenzaldehído.

Medio de cultivo: SIM

Reactivo: Reactivo de Kovacs

Incubación

Inocular una o dos colonias con asa de platino en el caldo.

Incubación

Incubar durante 24-48 horas a 35-37°C.

Interpretación de resultados

Después de la incubación realizamos lo siguiente:

Añadir 5 gotas del reactivo de kovacs agitando suavemente. La aparición de un anillo de color rojo en la superficie del medio indica producción de indol. Si no se forma el anillo rojo se considera la prueba negativa. (Álvarez M. Boquet y colaboradores 1995)

PRUEBA DE LA MOVILIDAD

La movilidad es una característica importante al hacer una determinación bacteriana, pues indirectamente señala que el microorganismo posee flagelos rasgo taxonómico que es difícil poner de manifiesto por otros métodos incluidos los tintoriales.

Medio de cultivo: SIM

Inoculación

Se siembra por picadura en el centro del medio introduciendo la aguja con cuidado hasta unos 0.6cm del fondo y extrayendo siguiendo el mismo recorrido de entrada.

Incubación

La temperatura de incubación dependerá de la bacteria estudiada ya que muchos organismos no son móviles a su temperatura óptima de crecimiento (35-37°C) y lo son a 18-25°C.

Se deben inocular dos tubos simultáneamente, incubando uno a 35-37°C y el otro a 22-25°C realizando lecturas diarias durante diez días.

Interpretación de los resultados

El test de movilidad se interpreta por un examen macroscópico del medio. Si el microorganismo es móvil se producirá una zona de difusión del crecimiento a los lados de la línea de inoculación. Si la bacteria es inmóvil crecerá sobre la línea de siembra

La movilidad deberá ser interpretada antes de adicionar el reactivo de Kovacs.

PRUEBA DEL CITRATO

Determinar la capacidad que posee algunos microorganismos de utilizar como única fuente de carbono el citrato, produciendo alcalinidad.

Inoculación

Inocular en estría en el pico de flauta

Incubación

Incubar a 35-37°C durante 24-48 horas.

Interpretación de resultados

Son dos los aspectos que confirman la positividad de la prueba:

- a) La observación de crecimiento sobre el pico de flauta.
- b) La variación de la coloración de verde a azul debido a la alcalinización del medio producida por la liberación de sodio del citrato utilizando sodio que con las moléculas de agua presentes forman NaOH. (Álvarez M. Boquet y colaboradores 1995)

PRUEBA DE LA ÚREA

Determina la capacidad de un organismo para desdoblar la urea, en amoníaco y CO₂ por acción de la enzima ureasa. La visualización del proceso se fundamenta en que la alcalinización producida en el medio de cultivo se detecta mediante un indicador de pH (rojo de fenol).

Solución de urea básica

Se utiliza una solución de urea al 20%. Pesar 20g de urea deshidratada y disolverlos en 100ml de agua destilada. No debe calentarse la solución ya que la urea se desnaturaliza por el calor. Esterilizar por filtración.

Inoculación

Efectuar un inóculo denso en la zona del pico de flauta.

Incubación

Incubar a 35-37°C durante 24-48 horas.

Interpretación de resultados

Se considera la prueba positiva si el medio adquiere una tonalidad rosada y negativa si mantiene su coloración inicial. (Álvarez M. Boquet y colaboradores 1995)

2.2.3.9 IDENTIFICACIÓN DE ECTOPARÁSITOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se tomaron 18 animales de los cuales son 9 ratones *Mus musculus* de una población de 30 ratones y 9 ratas *Rattus norvegicus* de una población de 47 de diferentes colonias, escogidas completamente al azar con las siguientes características. 3 animales de más de 9 meses, 3 animales de 3 meses, 3 animales de destete para ambas especies respectivamente para el análisis de ectoparásitos del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia para realizar el análisis de ectoparásitos.

IDENTIFICACIÓN DE ECTOPARÁSITOS

Este análisis permite identificación de ectoparásitos de los animales el mismo que se realizó aplicando el Método Graham.

Materiales

- Baja lenguas
- Cinta engomada
- Placas portaobjetos
- Guantes de goma
- Microscopio

Procedimiento

1. Colocar la cinta engomada en el baja lenguas
2. Tomar la muestra de los animales arrastrando el baja lenguas por el vientre del animal, el lomo, cola, hocico, patas y piel.
3. La cinta adhesiva se coloca sobre un portaobjetos con la cara engomada hacia el cristal y se analiza en el microscopio. (Buenaño V. 2010)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

3.1 MACROAMBIENTE

3.1.1 CONTROL DE LA TEMPERATURA Y LA HUMEDAD

CUADRO 1. CONTROL DE LA TEMPERATURA DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, (ENERO 2014)

MUESTRA	PROMEDIO °C	RANGO PERMITIDO °C
Alojamiento de ratones	20,0	18-26
Alojamiento de ratas	23,0	18-26
Maternidad	19,0	18-26

En el control diario de la temperatura durante un mes nos dio una temperatura promedio de 20,0°C en el cuarto donde se aloja a los ratones; mientras que las lecturas obtenidas del cuarto de alojamiento de las ratas da como temperatura promedio 23,0°C y el cuarto de maternidad se obtuvo una lectura promedio de 19,0°C. La norma indica como rango permitido de 18 a 26°C, establecido por el Canadian Council on Animal Care, (CCAC). Por lo que las lecturas de las temperaturas de las tres áreas cumplen con el rango permitido.

CUADRO 2. CONTROL DE LA HUMEDAD RELATIVA DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, (ENERO 2014)

MUESTRA	PROMEDIO %	RANGO PERMITIDO %
Alojamiento de ratones	51,2	30-70
Alojamiento de ratas	44,3	30-70
Maternidad	56,2	30-70

La humedad relativa tiene un rango permitido de 30 a 70% establecido por el Canadian Council on Animal Care, (CCAC) y los resultados obtenidos en el Bioterio indican un promedio de lecturas de humedad relativa de 51,2% en el cuarto de alojamiento de ratones; un promedio de humedad relativa de 44,3%, en área de mantenimiento de las ratas mientras que para el área de maternidad obtuvimos 56,2% Por lo que las lecturas realizadas durante los 30 días están dentro del rango permitido.

3.1.2 IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MACRO Y MICROAMBIENTE

CUADRO 3. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL MACRO Y MICROAMBIENTE

AMBIENTE	MICROORGANISMO
Macroambiente	Aerobios mesófilos
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	Mohos y levaduras
Microambiente	Aerobios mesófilos
	Coliformes totales
	Coliformes fecales
	<i>Escherichia coli</i>
	Mohos y levaduras

En la identificación de los microorganismos existentes en el macroambiente encontramos a los Aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Mohos y levaduras mientras que en el microambiente los contaminantes son Aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, Mohos y levaduras

3.1.3 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AIRE

CUADRO 4. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL AIRE

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ³ PLACA DE AGAR PCA	UFC/m ³ PLACA DE AGAR MAC CONKEY	UFC/m ³ PLACA DE AGAR SABOURAUD	RANGO PERMITIDO UFC/m ³
Punto 1	124,0×10 ³	44,5×10 ³	155,5×10 ³	<5
Punto 2	126,6×10 ³	39,5×10 ³	140,0×10 ³	<5
Punto 3	149,3×10 ³	67,3×10 ³	189,5×10 ³	<5

P1.1: Aire del área de mantenimiento de ratones

P2.1: Aire del área de mantenimiento de ratas

P3.1: Aire del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico del aire se obtuvo un conteo en agar PCA a 35°C durante 48 horas de incubación en una dilución 10^{-3} de $124,0 \times 10^3$ UFC/m³ en el área de mantenimiento de ratones. En el área de mantenimiento de ratas en una dilución 10^{-3} se obtuvo un promedio de $126,6 \times 10^3$ y en el área de maternidad en una dilución 10^{-3} nos dio un promedio $149,3 \times 10^3$. En el agar Mac Conkey con una temperatura de 35°C a 24 horas de incubación en una dilución 10^{-3} se obtuvo un promedio de $44,5 \times 10^3$ UFC/m³ en el área de ratones; $39,5 \times 10^3$ en el área de ratas y $67,3 \times 10^3$ en el área de maternidad; y en una dilución 10^{-3} en el agar Sabouraud con una incubación de 5 días a 28°C se obtuvo un promedio de $155,5 \times 10^3$ en el área de ratones, $140,0 \times 10^3$ en el área de ratas y $189,5 \times 10^3$ en el área de maternidad. Todos estos promedios se encuentran fuera del rango permitido por la ISO 14644-1 que es de <5 UFC/m³ para ambientes estériles.

3.1.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS PISOS

CUADRO 5. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AEROBIOS MESÓFILOS DE LOS PISOS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Piso 1	$307,0 \times 10^7$	$67,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Piso 2	$321,0 \times 10^7$	$56,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Piso 3	$335,0 \times 10^7$	$91,0 \times 10^1$	0,0	1,0	<5

Piso 1: Piso del área de mantenimiento de ratones

Piso 2: Piso del área de mantenimiento de ratas

Piso 3: Piso de área de maternidad

En el conteo de aerobios mesófilos de los pisos en 48 horas de incubación a 35°C en una dilución de 10^{-7} se encontró $307,0 \times 10^7$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza en una dilución 10^{-1} se obtuvo $67,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección y después de un día de la misma no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $321,0 \times 10^7$ UFC/m² antes de la limpieza $56,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma tampoco se observaron colonias en ninguna de las diluciones. En el área de maternidad se obtuvo $335,0 \times 10^7$ UFC/m² antes de la limpieza, $91,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y una colonia después de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ningún piso cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 6. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COLIFORMES DE LOS PISOS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Piso 1	136,0×10 ⁵	65,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Piso 2	139,0×10 ⁵	74,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Piso 3	171,0×10 ⁵	82,0×10 ¹	0,0	2,0	<5

Piso 1: Piso del área de mantenimiento de ratones

Piso 2: Piso del área de mantenimiento de ratas

Piso 3: Piso de área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de coliformes de los pisos en 24 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de 136,0×10⁵ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 65,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección y un día después de la misma no se hallaron colonias; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 139,0×10⁵ UFC/m² antes de la limpieza 74,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día no se hallan colonias. En el área de maternidad se obtuvo 171×10⁵ UFC/m² antes de la limpieza, 82,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, no se observó ninguna colonia después de la desinfección y dos colonia después de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ningún piso cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 7. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS DE LOS PISOS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Piso 1	186,0×10 ⁷	36,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Piso 2	147,0×10 ⁷	23,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Piso 3	201,0×10 ⁷	17,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Piso 1: Piso del área de mantenimiento de ratones

Piso 2: Piso del área de mantenimiento de ratas

Piso 3: Piso de área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos en 5 días de incubación a 28°C se obtuvo un promedio de 186,0×10⁷ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 36,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y después de un día de la desinfección tampoco; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 147,0×10⁷ UFC/m² antes de la

limpieza $23,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección ni después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $201,0 \times 10^7$ UFC/m² antes de la limpieza; $17,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección ni luego de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ningún piso cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

3.1.5. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PAREDES

CUADRO 8. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AEROBIOS MESÓFILOS DE LAS PAREDES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Pared 1	$110,0 \times 10^3$	$34,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Pared 2	$118,0 \times 10^3$	$23,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Pared 3	$138,0 \times 10^3$	$45,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5

Pared 1: Pared del área de mantenimiento de ratones
Pared 2: Pared del área de mantenimiento de ratas
Pared 3: Pared del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de aerobios mesófilos de las paredes en 48 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de $110,0 \times 10^3$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo $34,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones al igual que un día después de la desinfección; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $118,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza $23,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y no se observó ninguna colonia luego de la desinfección ni después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $138,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $45,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza; no se observó ninguna colonia después de la desinfección ni después de un día de la misma. Antes y después de la limpieza ninguna pared cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 9. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COLIFORMES DE LAS PAREDES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Pared 1	27,0×10 ³	5,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Pared 2	36,0×10 ³	3,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Pared 3	51,0×10 ³	9,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Pared 1: Pared del área de mantenimiento de ratones

Pared 2: Pared del área de mantenimiento de ratas

Pared 3: Pared del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de coliformes de los pisos en 24 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de 27,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 5,0×10¹ UFC/m²; luego de la desinfección y un día después de la misma no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 36,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza 3,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo 51,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza, 9,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza y ninguna colonia después de la desinfección al igual que después de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ninguna pared cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 10. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS DE LAS PAREDES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Pared 1	15,0×10 ³	6,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Pared 2	22,0×10 ³	11,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Pared 3	42,0×10 ³	9,0×10 ¹	0,0	1,0	<5

Pared 1: Pared del área de mantenimiento de ratones

Pared 2: Pared del área de mantenimiento de ratas

Pared 3: Pared del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos en 5 días de incubación a 28°C se obtuvo un promedio de 15,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 6,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y después de un día de la desinfección tampoco;

en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $22,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza $11,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $42,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $9,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y luego de un día de la desinfección hay una colonia. Antes y después de la limpieza ninguna pared cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

3.1.6 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE VENTANAS

CUADRO 11. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AEROBIOS MESÓFILOS DE LAS VENTANAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ²	UFC/m ²	UFC/m ²	UFC/m ²	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
	PLACA DE AGAR PCA. antes de la limpieza	PLACA DE AGAR PCA. después de la limpieza	PLACA DE AGAR PCA. después de la desinfección	PLACA DE AGAR PCA. después de un día de la desinfección	
Ventana 1	$96,0 \times 10^3$	$14,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Ventana 2	$82,0 \times 10^3$	$24,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Ventana 3	$102,0 \times 10^3$	$17,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5

Ventana 1: Ventana del área de mantenimiento de ratones

Ventana 2: Ventana del área de mantenimiento de ratas

Ventana 3: Ventana del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de aerobios mesófilos de las paredes en 48 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de $96,0 \times 10^3$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo $14,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones al igual que un día después de la desinfección; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $82,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza $24,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $102,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $17,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza y de un día de la misma ninguna colonia. Antes y después de la limpieza ninguna ventana cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 12. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COLIFORMES DE LAS VENTANAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Ventana 1	64,0×10 ³	12,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Ventana 2	40,0×10 ³	5,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Ventana 3	73,0×10 ³	10,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Ventana 1: Ventana del área de mantenimiento de ratones

Ventana 2: Ventana del área de mantenimiento de ratas

Ventana 3: Ventana del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de coliformes de los pisos en 24 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de 64,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 12,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección y un día después de la misma no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 40,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza 5,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo 73,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza, 10,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y ninguna después de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ninguna ventana cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 13. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS DE LAS VENTANAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Ventana 1	40,0×10 ³	3,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Ventana 2	33,0×10 ³	7,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Ventana 3	55,0×10 ³	5,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Ventana 1: Ventana del área de mantenimiento de ratones

Ventana 2: Ventana del área de mantenimiento de ratas

Ventana 3: Ventana del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos en 5 días de incubación a 28°C se obtuvo un promedio de $40,0 \times 10^3$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo $3,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y después de un día de la desinfección tampoco; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $33,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza $7,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $55,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $5,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y luego de un día de la desinfección hay una colonia. Antes y después de la limpieza ninguna ventana cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

3.1.7 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PUERTAS

CUADRO 14. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AEROBIOS MESÓFILOS DE LAS PUERTAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Puerta 1	$94,0 \times 10^3$	$27,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Puerta 1	$87,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
Puerta 3	$123,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5

Puerta 1: Puerta del área de mantenimiento de ratones
Puerta 2: Puerta del área de mantenimiento de ratas
Puerta 3: Puerta del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de aerobios mesófilos de las paredes en 48 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de $94,0 \times 10^3$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo $27,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones al igual que un día después de la desinfección; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $87,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza $9,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $123,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $3,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza y de un día de la misma ninguna colonia. Antes y después de la limpieza ninguna puerta cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles

que es de $<5\text{UFC}/\text{m}^2$ y luego de la desinfección el contaje se encuentra dentro del rango.

CUADRO 15. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COLIFORMES DE LAS PUERTAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Puerta 1	72,0×10 ³	10,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Puerta 2	51,0×10 ³	7,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Puerta 3	83,0×10 ³	5,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Puerta 1: Puerta del área de mantenimiento de ratones

Puerta 2: Puerta del área de mantenimiento de ratas

Puerta 3: Puerta del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de coliformes de los pisos en 24 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de 72,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 10,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección y un día después de la misma no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 51,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza 7,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo 83,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza, 5,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y ninguna después de un día de la desinfección. Antes y después de la limpieza ninguna puerta cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 16. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS DE LAS PUERTAS

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Puerta 1	47,0×10 ³	2,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Puerta 2	39,0×10 ³	5,0×10 ¹	0,0	0,0	<5
Puerta 3	59,0×10 ³	8,0×10 ¹	0,0	0,0	<5

Puerta 1: Puerta del área de mantenimiento de ratones

Puerta 2: Puerta del área de mantenimiento de ratas

Puerta 3: Puerta del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos en 5 días de incubación a 28°C se obtuvo un promedio de 47,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 2,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y después de un día de la desinfección tampoco; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 39,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza 5,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y

después de un día de la misma. En el área de maternidad se obtuvo $59,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $8,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y luego de un día de la desinfección hay una colonia. Antes y después de la limpieza ninguna puerta cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

3.1.8 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE ESTANTES

CUADRO 17. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE AEROBIOS MESÓFILOS DE LOS ESTANTES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR PCA. después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Estante 1	$150,0 \times 10^5$	$25,0 \times 10^1$	0,0	2,0	<5
Estante 2	$172,0 \times 10^5$	$43,0 \times 10^1$	0,0	1,0	<5
Estante 3	$234,0 \times 10^5$	$26,0 \times 10^1$	0,0	1,0	<5

Estante 1: Estantes del área de mantenimiento de ratones

Estante 2: Estantes del área de mantenimiento de ratas

Estante 3: Estantes del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de aerobios mesófilos de las paredes en 48 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de $150,0 \times 10^5$ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo $25,0 \times 10^1$ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones luego de un día de la desinfección se observó dos colonias; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo $172,0 \times 10^5$ UFC/m² antes de la limpieza $43,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma se encontró una colonia. En el área de maternidad se obtuvo $234,0 \times 10^5$ UFC/m² antes de la limpieza, $26,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza y después e noto una colonia. Antes y después de la limpieza ningún estante cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

CUADRO 18. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COLIFORMES DE LOS ESTANTES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR MAC CONKEY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Estante 1	105,0×10 ³	71,0×10 ¹	0,0	1,0	<5
Estante 2	96,0×10 ³	65,0×10 ¹	0,0	1,0	<5
Estante 3	147,0×10 ³	87,0×10 ¹	0,0	1,0	<5

Estante 1: Estantes del área de mantenimiento de ratones

Estante 2: Estantes del área de mantenimiento de ratas

Estante 3: Estantes del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de coliformes de los pisos en 24 horas de incubación a 35°C se obtuvo un promedio de 105,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 71,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección y un día después de no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y luego de un día se encontró una colonia; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 96,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza 65,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día de la misma se observó una colonia. En el área de maternidad se obtuvo 147,0×10³ UFC/m² antes de la limpieza, 87,0×10¹ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia después de la desinfección y después de un día de la desinfección una colonia. Antes y después de la limpieza ningún estante cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m² y luego de la desinfección el contaje se encuentra dentro del rango.

CUADRO 19. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS DE LOS ESTANTES

SITIO DE MUESTREO	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. antes de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la limpieza	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. después de la desinfección	UFC/m ² PLACA DE AGAR OGY. Después de un día de la desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
Estante 1	62,0×10 ³	45,0×10 ¹	0,0	1,0	<5
Estante 2	75,0×10 ³	32,0×10 ¹	0,0	1,0	<5
Estante 3	94,0×10 ³	27,0×10 ¹	0,0	3,0	<5

Estante 1: Estantes del área de mantenimiento de ratones

Estante 2: Estantes del área de mantenimiento de ratas

Estante 3: Estantes del área de maternidad

Al realizar el control microbiológico de mohos y levaduras de los pisos en 5 días de incubación a 28°C se obtuvo un promedio de 62,0×10³ UFC/m² en el área de ratones, luego de la limpieza se obtuvo 45,0×10¹ UFC/m², luego de la desinfección no se hallaron colonias en ninguna de las diluciones y después de un día de la desinfección se encontró una colonia; en el área de mantenimiento de ratas se obtuvo 75,0×10³ UFC/m²

antes de la limpieza $32,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, y ninguna colonia luego de la desinfección y después de un día se observó una colonia. En el área de maternidad se obtuvo $94,0 \times 10^3$ UFC/m² antes de la limpieza, $27,0 \times 10^1$ UFC/m² después de la limpieza, ninguna colonia y luego de un día de la desinfección hay tres colonia. Antes y después de la limpieza ningún estante cumple con los requerimientos de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m² y luego de la desinfección el conteo se encuentra dentro del rango.

3.2 MICROAMBIENTE

3.2.1 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE JAULAS

CUADRO 20. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS JAULAS

SITIO DE MUESTRA	AGAR	UFC/m ² Antes de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza y desinfección	UFC/m ² Después de un día de la limpieza y desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
JAULAS	AGAR PCA	$200,5 \times 10^5$	$27,0 \times 10^1$	0,0	0,0	<5
	AGAR MAC KONKEY	$83,0 \times 10^3$	$18,7 \times 10^1$	0,0	0,6	<5
	AGAR OGY	$109,4 \times 10^3$	$58,9 \times 10^1$	0,0	0,9	<5

UFC: Unidades formadoras de colonias

En el análisis de las jaulas para aerobios mesófilos antes de la limpieza en agar PCA dio un promedio de $200,5 \times 10^5$ UFC/m², para coliformes en agar Mac Conkey un promedio de $83,0 \times 10^3$ UFC/m² y en agar OGY para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $109,4 \times 10^3$ UFC/m², que excede el rango permitido por la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5 UFC/m². Después de la limpieza se obtuvo un promedio de $27,0 \times 10^1$ UFC/m², para aerobios mesófilos, para coliformes se obtuvo un promedio de $18,7 \times 10^1$ UFC/m² y para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $58,9 \times 10^1$ UFC/m² que también excede los rangos permitidos. Luego de la desinfección no se observaron colonias en ninguno de los agares ni en ninguna de las diluciones. Y finalmente al analizar después de un día de la desinfección para aerobios mesófilos no se hallaron colonias para coliformes se encontró 0,6UFC/m² y para mohos y levaduras se encontró 0,9UFC/m² que de igual forma se encuentra dentro de los rangos permitidos.

3.2.2 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE COMEDEROS

CUADRO 21. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS COMEDEROS

SITIO DE MUESTRA	AGAR	UFC/m ² Antes de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza y desinfección	UFC/m ² Después de un día de la limpieza y desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/m ²
COMEDEROS	AGAR PCA	297,9×10 ⁷	49,7×10 ³	0,0	0,0	<5
	AGAR MAC KONKEY	120,9×10 ⁵	19,3×10 ³	0,0	0,2	<5
	AGAR OGY	164,1×10 ⁵	51,2×10 ¹	0,0	0,6	<5

UFC: Unidades formadoras de colonias

En el análisis de los comederos para aerobios mesófilos antes de la limpieza en agar PCA dio un promedio de $297,9 \times 10^7$ UFC/m², para coliformes en agar Mac Conkey un promedio de $120,9 \times 10^5$ UFC/m² y en agar OGY para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $164,1 \times 10^5$ UFC/m², que excede el rango permitido por la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de <5UFC/m². Después de la limpieza se obtuvo un promedio de $49,7 \times 10^3$ UFC/m², para aerobios mesófilos, para coliformes se obtuvo un promedio de $19,3 \times 10^3$ UFC/m² y para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $51,2 \times 10^1$ UFC/m² que también excede los rangos permitidos. Luego de la desinfección no se observaron colonias en ninguno de los agares ni en ninguna de las diluciones. Y finalmente al analizar después de un día de la desinfección para aerobios mesófilos no se hallaran colonias para coliformes se encontró 0,2UFC/m² y para mohos y levaduras se encontró 0,6UFC/m² que de igual forma se encuentra dentro de los rangos

3.2.3 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS BEBEDEROS

CUADRO 22. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS BEBEDEROS

SITIO DE MUESTRA	AGAR	UFC/m ² Antes de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza y desinfección	UFC/m ² Después de un día de la limpieza y desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/superficie muestreada
BEBEDEROS	AGAR PCA	275,9×10 ⁵	62,4×10 ¹	0,0	0,00	<10
	AGAR MAC KONKEY	113,0×10 ³	16,3×10 ¹	0,0	0,00	<10
	AGAR OGY	72,9×10 ³	17,2×10 ¹	0,0	0,00	<10

UFC: Unidades formadoras de colonias

En el análisis de los bebederos para aerobios mesófilos antes de la limpieza en agar PCA dio un promedio de $275,9 \times 10^5$ UFC/m², para coliformes en agar Mac Conkey un promedio de $113,0 \times 10^3$ UFC/m² y en agar OGY para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $72,9 \times 10^3$ UFC/m², que excede el rango permitido por Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas que es de <10 UFC/m². Después de la limpieza se obtuvo un promedio de $62,4 \times 10^1$ UFC/m², para aerobios mesófilos, para coliformes se obtuvo un promedio de $16,3 \times 10^1$ UFC/m² y para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $17,2 \times 10^1$ UFC/m² que también excede los rangos permitidos. Luego de la desinfección no se observaron colonias en ninguno de los agares ni en ninguna de las diluciones. Y finalmente al analizar después de un día de la desinfección no se encontró ninguna colonia en ninguna de las diluciones por lo que se encuentra dentro de los rangos permitidos.

3.2.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS TAPONES DE LOS BEBEDEROS

CUADRO 23. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS TAPONES DE LOS BEBEDEROS

SITIO DE MUESTRA	AGAR	UFC/m ² Antes de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza	UFC/m ² Después de la limpieza y desinfección	UFC/m ² Después de un día de la limpieza y desinfección	RANGO PERMITIDO UFC/superficie muestreada
TAPONES PARA LOS BEBEDEROS	AGAR PCA	$168,2 \times 10^5$	$58,2 \times 10^1$	0,0	0,60	<10
	AGAR MAC KONKEY	$96,1 \times 10^3$	$14,4 \times 10^1$	0,0	0,0	<10
	AGAR OGY	$162,0 \times 10^3$	$42,8 \times 10^1$	0,0	1,1	<10

UFC: Unidades formadoras de colonias

En el análisis de los bebederos para aerobios mesófilos antes de la limpieza en agar PCA dio un promedio de $168,2 \times 10^5$ UFC/m², para coliformes en agar Mac Conkey un promedio de $96,1 \times 10^3$ UFC/m² y en agar OGY para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $162,0 \times 10^3$ UFC/m², que excede el rango permitido por la Guía técnica para el análisis de superficies en contacto con alimentos y bebidas que es de <10 UFC/superficies muestreada. Después de la limpieza se obtuvo un promedio de $58,2 \times 10^1$ UFC/m², para aerobios mesófilos, para coliformes se obtuvo un promedio de $14,4 \times 10^1$ UFC/m² y para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de $42,8 \times 10^1$ UFC/m² que también excede los rangos permitidos. Luego de la desinfección no se observaron colonias en ninguno de los agares ni en ninguna de las diluciones. Y finalmente al analizar después de un día de la desinfección para aerobios mesófilos se

obtuvo 0,6UFC/m², para coliformes no se encontró colonias y para mohos y levaduras se encontró 1,1UFC/m² que de igual forma se encuentra dentro de los rangos permitidos.

3.2.5 CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL LECHO

CUADRO 24. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL LECHO

SITIO DE MUESTRA	AGAR	UFC/m ² ANTES DEL CERNIDO	UFC/m ² DESPUES DEL CERNIDO	UFC/m ² DESPUES DE UN DÍA DEL CERNIDO	RANGO PERMITIDO UFC/g
LECHO	AGAR PCA	325,7×10 ⁷	129,2×10 ³	137,4×10 ³	< 10
	AGAR MAC KONKEY	172,8×10 ⁷	47,7×10 ¹	51,7×10 ¹	0
	AGAR OGY	269,0×10 ⁵	79,3×10 ¹	83,3×10 ¹	0

UFC: Unidades formadoras de colonias

En el análisis del lecho para aerobios mesófilos antes de la limpieza en agar PCA dio un promedio de 325,7×10⁷ UFC/g, para enterobacterias en agar Mac Conkey un promedio de 176,8×10⁷ UFC/g y en agar OGY para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de 269,0×10⁵UFC/g, que excede el rango permitidos en la disposición 7352/99 de Salud Pública de España en el Control Higiénico Sanitario de los productos farmacéuticos estériles que son para aerobios viables totales: <10 UFC/g; ausencia de Enterobacteriaceae en un gramo; ausencia de mohos y levaduras por gramos. Después del cernido se obtuvo un promedio de 129,2×10³ UFC/g, para aerobios mesófilos, para enterobacterias se obtuvo un promedio de 47,7×10¹ UFC/g y para mohos y levaduras se obtuvo un promedio de 79,3×10¹ UFC/g que también excede los rangos permitidos. Luego de un día del cernido se obtiene 137,4×10³ para aerobios mesófilos; 51,7×10¹ para enterobacterias y 83,3×10¹ para mohos y levaduras que de igual modo se encuentran lejos del rango establecido.

3.2.6 CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL ALIMENTO

CUADRO 25. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS PELLETS

MUESTRA	ANÁLISIS	CONTAJE UFC/G	RANGO PERMITIDO UFC/G
Pellets sellados	Enterobacterias	Ausencia	3×10 ⁶ UFC/g
	Coliformes totales	Ausencia	10 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	10 UFC/g
	Mohos y Levaduras	3,0	10 UFC/g
Pellets abiertos y en uso	Enterobacterias	Ausencia	3×10 ⁶ UFC/g
	Coliformes totales	Ausencia	10 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	10 UFC/g
	Mohos y Levaduras	150,0	10 UFC/g
Pellets (comederos sucios)	Enterobacterias	MNPC	3×10 ⁶ UFC/g
	Coliformes totales	MNPC	10 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	MNPC	10 UFC/g
	Mohos y Levaduras	217,0	10 UFC/g
Pellets (comederos limpios y desinfectados)	Enterobacterias	Ausencia	3×10 ⁶ UFC/g
	Coliformes totales	Ausencia	10 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	10 UFC/g
	Mohos y Levaduras	16,0	10 UFC/g

MNPC: muy numerosos para contar

En los pellets sellados solo encontramos un promedio de tres colonias de mohos y levaduras por lo que podemos decir que este se encuentra dentro de los límites permitidos por la The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” Octava Edición, 2011 en la página 67 – 68 que nos da un valor de 3,0×10⁶ UFC/g para enterobacterias, 10 UFC/g para Coliformes totales, *Escherichia coli*, Mohos y Levaduras. En los pellets abiertos y en uso solo se encontró 150,0 UFC/g mohos y levaduras que esta fuera de los rangos permitidos Mientras que al analizar los pellets de los comederos antes de la limpieza y desinfección se encontraron Enterobacterias MNPC, Coliformes totales, MNPC, *Escherichia coli*, MNPC y 217 UFC/g Mohos y Levaduras encontrándose que todos están fuera del rango permitido. Y por último al analizar los pellets de los comederos después de ser sometidos a la limpieza y desinfección notamos que la contaminación disminuyó encontrando solo 16,0 UFC/g de mohos y levaduras

3.2.7 CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL AGUA

CUADRO 26. CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL AGUA

MUESTRA	ANÁLISIS	CONTAJE UFC/ 100mL	RANGO PERMITIDO UFC/ 100mL
Agua del grifo sin clorar	Aerobios mesófilos	281,0	30 UFC/ 100ml
	Coliformes totales	43,0	2 UFC/ 100ml
	Coliformes fecales	195,0	Ausencia UFC/ 100ml
Agua de grifo clorada	Aerobios mesófilos	0,0	30 UFC/ 100ml
	Coliformes totales	0,0	2 UFC/ 100ml
	Coliformes fecales	0,0	Ausencia UFC/ 100ml
Agua destilada sin clorar	Aerobios mesófilos	48,0	30 UFC/ 100ml
	Coliformes totales	0,0	2 UFC/ 100ml
	Coliformes fecales	0,0	Ausencia UFC/ 100ml
Agua destilada clorada	Aerobios mesófilos	0,0	30 UFC/ 100ml
	Coliformes totales	0,0	2 UFC/ 100ml
	Coliformes fecales	0,0	Ausencia UFC/ 100ml

Fuente: Norma INEN 1108

En el agua del grifo sin clorar encontramos aerobios mesófilos, coliformes totales y coliformes fecales fuera del rango permitido en tanto al clorar el agua la contaminación microbiológica disminuyó notablemente encontrándose dentro de los parámetros requeridos; del mismo modo al analizar el agua destilada que tienen como destino los bebederos de los especímenes solo los aerobios mesófilos se encontraron elevados y fuera del rango y al clorarla se logró que estuviera dentro del rango.

3.3. CONTROL DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

3.3.1. IDENTIFICACIÓN DE ECTOPARASITOS EN RATONES

CUADRO N°27 CONTROL DE ECTOPARASITOS EN RATONES

ANIMAL		PARÁSITOS	CANTIDAD
Adultos 9 meses	Ratón 1	Ácaros	1/placa
	Ratón 2	NP	-
	Ratón 3	NP	-
Jóvenes 3 meses	Ratón 1	Ácaros	1/placa
	Ratón 2	NP	-
	Ratón 3	NP	-
Destete 1 mes	Ratón 1	NP	-
	Ratón 2	NP	-
	Ratón 3	NP	-
Prevalencia	Ácaros	22,2%	
	NP	77,8%	

NP: no se encontró parásitos

Al identificar los ectoparásitos en ratones encontramos ácaros los mismos que se encuentran una prevalencia de casi el 22,2% de ácaros en los ratones.

3.3.2 IDENTIFICACIÓN DE ECTOPARASITOS EN RATAS

CUADRO N°28 CONTROL DE ECTOPARASITOS DE RATAS

Animal		Parásitos	Cantidad
Adultos 9 meses	Rata 1	NP	-
	Rata 2	Ácaros	2/placa
	Rata 3	Ácaros	1/placa
Jóvenes 3 meses	Rata 1	NP	-
	Rata 2	Ácaros	1/placa
	Rata 3	NP	-
Destete 1 mes	Rata 1	NP	-
	Rata 2	NP	-
	Rata 3	NP	-
Prevalencia	Ácaros	33,3%	
	NP	66,7%	

NP: no se encontró parásitos

Al identificar los ectoparásitos en ratas encontramos ácaros los mismos que se encuentran una prevalencia de casi el 33,3% de ácaros en las ratas.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Mediante métodos microbiológicos de análisis e identificación planteados en normas internacionales determinamos que los microorganismos presentes en el macroambiente fueron *Staphylococcus aureus* en el aire; aerobios mesófilos en el aire, piso, paredes, ventanas, puertas y estantes; coliformes totales en el aire, piso, paredes, ventanas, puertas y estantes; mohos y levaduras en el aire, piso, paredes, ventanas, puertas y estantes. Mientras que en el microambiente se identificó la presencia de *Escherichia coli* en las jaulas, lecho, comederos, bebederos, tapones de los bebederos, agua del grifo y pellets en uso; aerobios mesófilos en jaulas, lecho, comederos, bebederos, tapones de los bebederos, agua del grifo y destilada y pellets en uso; coliformes fecales en el agua de grifo; coliformes totales en el agua de grifo; mohos y levaduras en jaulas, lecho, comederos, bebederos, tapones de los bebederos, agua del grifo y pellets en uso. Según el cuadro 3.
2. Se evaluó la calidad microbiológica del macroambiente en las áreas de mantenimiento y maternidad de ratones y ratas antes de la limpieza y desinfección y se obtuvo un promedio de $133,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^3$ para aerobios mesófilos, $52,1 \times 10^3 \text{UFC/m}^3$ para coliformes, $161,7 \times 10^3 \text{UFC/m}^3$ para mohos y levaduras en el aire. En el piso se encontró $321,0 \times 10^7 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $148,7 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $178,0 \times 10^7 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En las paredes se obtuvo un promedio $118,7 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos. $38,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $26,3 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En las ventanas se encontró un conteo promedio de $59,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $42,7 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $93,3 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En las puertas se obtuvo un promedio de $101,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $68,7 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $48,3 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En los estantes se encontró un promedio de $185,3 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para

aerobios mesófilos, $116,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $40,3 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. Mientras que en el microambiente de las mismas áreas se obtuvo un promedio de $200,5 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $83,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $109,4 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras en las jaulas. En los comederos se encontró un promedio de $297,0 \times 10^7 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $120,9 \times 10^7 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $164,1 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En los bebederos se obtuvo un promedio de $275,9 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $113,0 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $72,9 \times 10^3 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. En los tapones de los bebederos se encontró un promedio de $168,2 \times 10^7 \text{UFC/m}^2$ para aerobios mesófilos, $96,05 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para coliformes, $162,0 \times 10^5 \text{UFC/m}^2$ para mohos y levaduras. Y finalmente en el conteo microbiano del lecho se obtuvo un promedio $325,7 \times 10^7 \text{UFC/g}$ para aerobios mesófilos, $172,8 \times 10^7 \text{UFC/g}$ para coliformes, $269,0 \times 10^5 \text{UFC/g}$ para mohos y levaduras lo que nos indica que existe un alto grado de contaminación microbiana en el bioterio.

3. Luego de la limpieza se observó una disminución de la carga microbiana de 33.3% en el lecho; 26.8% en los pisos; 15.8% en los comederos; 20.8% en los bebederos; 27% en los tapones de los bebederos; 26.5% en las jaulas; 31.6% en los estantes; 10,0% en puertas; 13.2% en ventanas; 27.9% en paredes, con lo que se demuestra que en la limpieza se elimina una parte de la carga microbiana si hace apropiadamente. Y después de la desinfección se logró reducir la carga microbiana en casi el 100% elevándose ligeramente al analizar un día después de la desinfección lo cual cumple con la norma de la Farmacopea Española para superficies de áreas estériles que es de $<5 \text{UFC/m}^2$. Los desinfectantes usados fueron hipoclorito de sodio en el piso a 1000ppm; 500ppm para paredes; 200ppm para ventanas y puertas; 100ppm para bebederos; y alcohol etílico al 70% usado para la desinfección de los estantes, jaulas.

4. En análisis microbiológico de los pellets dan como resultado que tanto en los pellets sellados como en los que se encontraban en las bolsas ya abiertas y en uso se hallaban dentro de los rangos establecidos por "The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" Octava Edición, 2011 en la página 67 – 68 de solo los mohos y levaduras se encontraron ligeramente elevados con 3,0 UFC/g en los bolsas abiertas y en uso, mientras que la contaminación se incrementaba al colocar los pellets en los

comederos sucios obteniendo Enterobacterias MNPC, Coliformes totales MNPC, y a más de esto existe la aparición de un patógenos como la *Escherichia coli* MNPC, por lo que se puede asegurar que los comederos son una fuente contaminante muy alta para el alimento de los animales mientras estén sucios por lo tanto de nada sirve si el alimento es completamente inocuo si los comederos no tiene una adecuada limpieza y desinfección. Según el cuadro 25.

5. En el conteo microbiológico del agua de grifo se encontró 281,0 UFC/100mL, 43,0 UFC/100mL de coliformes totales y 195,0UFC/100mL. El agua destilada presento 48,0 UFC/ 100mL de aerobios mesófilos, y ausencia de coliformes fecales y totales, comparando los resultados con la norma para agua potable establecida por la norma INEN 1105 que es de 30,0UFC/ 100mL de aerobios mesófilos, 2,0UFC/ 100mL de coliformes totales y ausencia de coliformes fecales afirmamos que el agua destilada es de buena calidad y apta para el consumo de los animales de experimentación.
6. Con ayuda del método Graham se encontró la presencia de ácaros tanto en ratones como en ratas con una prevalencia del 22,2 para ratones y 30,3 para ratas por lo que indicamos que también es necesario el control de plagas dentro del bioterio.
7. Se elaboró un procedimiento que describe detalladamente los pasos a seguir para la limpieza y desinfección de la áreas de mantenimiento y maternidad el cual pretende ser de ayuda para lograr que el bioterio de la Facultad de Ciencias tenga un alto grado de calidad sanitaria.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Sería necesario una readecuación de la infraestructura para mejorar las condiciones de habitad los animales de experimentación y facilitar la limpieza y desinfección.
2. Hacer un control rutinario de todos los factores macroambientales y microambientales para conocer su estado y vigilar su mejoramiento.
3. Seguir el manual de limpieza y desinfección que se anexa en la presente tesis para de asegurar los mejores resultados en cuanto a la contaminación microbiológica existe en las distintas áreas del bioterio. Respetar cada uno de los protocolos de limpieza para cada elemento del micro y macroambiente para evitar problemas. Ingresar a las salas consideradas como espacio limpio con la vestimenta apropiada; es decir con gorro, mascarilla, guantes, mandil, zapatones para evitar contaminación en estas áreas.
4. Se requiera la gestión administrativa para la adquisición de un autoclave de uso exclusivo del bioterio.
5. Llevar un registro de todas las actividades y de los responsables porque eso garantiza el cumplimiento de las tareas.
6. Hacer una evaluación microbiológica cada 6 meses para monitorear el cumplimiento de las normas.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La presente investigación tiene por tema Implementación de un sistema de limpieza y desinfección en los criaderos de mantenimiento y maternidad de la Facultad de Ciencias, el mismo que tiene como objetivo evaluar la carga microbiana existente en estas áreas para mediante un sistema de limpieza mantener estos niveles bajos y conseguir un bioterio de calidad. Empleando el método científico y experimental se consiguió evaluar microbiológicamente cada uno de los factores que conforman tanto el macroambiente como el microambiente antes y después de la limpieza y desinfección mediante las técnicas estándares para conteo bacteriano. Todas las muestras tomadas para el análisis microbiológico fueron seleccionadas al azar. En el macroambiente (aire, paredes, pisos, estantes, puertas, ventanas), se identificó la existencia de Aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y Mohos y levaduras. En el análisis del microambiente (jaulas, lecho, bebederos, tapones de los bebederos, comederos, agua, alimento) se encontró, Aerobios mesófilos, Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli* y Mohos y levaduras. Los puntos críticos encontrados fueron el material del lecho con $325,67 \times 10^7$ UFC/g para aerobios mesófilos, $172,83 \times 10^3$ UFC/g para coliformes y $269,00 \times 10^5$ UFC/g; y los pisos con $321,00 \times 10^7$ UFC/m² para aerobios mesófilos, $148,70 \times 10^5$ UFC/m² para coliformes y $178,00 \times 10^5$ UFC/m² para mohos y levaduras; y luego de la limpieza y desinfección se logró mantener los niveles dentro de la norma establecida por la Farmacopea Española para ambientes estériles y así se logró determinar la eficacia de los procesos implementados para adoptarlos como rutinarios en las mencionadas áreas de alojamiento de los animales de experimentación. En el análisis de ectoparásitos se encontró una prevalencia 20,22% de ácaros en los ratones y 30,33% de prevalencia en ratas. Por lo que se recomienda seguir las instrucciones de los procedimientos para un correcto aseo del bioterio.

ABSTRACT

This research, implementation of a system of cleaning and disinfection in hatcheries maintenance and maternity of the Faculty of Science, the same is to evaluate the existing microbial load in these areas through a system for cleaning and maintaining these low levels get a quality vivarium.

Employing scientific and experimental methods was achieved microbiologically evaluate each of the factor shaping both the macro environment and the microenvironment before and after cleaning and disinfection using the standard techniques for bacterial count.

All samples taken for microbiology analysis were selected randomly. In the analysis of the macro environment (air, walls, floors, shelves, doors, windows), the existence of mesophilic aerobes was identified. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, yeast and molds. In the analysis of the microenvironment (cages, bedding, drinkers, plugs drinkers, feeders, water, food), mesophilic aerobes, total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli*, yeast and mold was found.

This critical point were found with the bed material with $325,67 \times 10^7$ UFC/g for mesophilic aerobes, $172,83 \times 10^3$ UFC/g for coliforms and $269,00 \times 10^5$ UFC/g; and the floors with $321,00 \times 10^7$ UFC/m² for mesophilic aerobes, $148,70 \times 10^5$ UFC/m² for coliforms and $178,00 \times 10^5$ UFC/m² for yeast, and after cleaning and disinfection was achieved keeping levels within the standard established by the Spanish Pharmacopoeia for sterile environments and thus achieve determine the effectiveness of the implemented process to adopt as routine in the mentioned areas of housing of experimental animals. In the analysis of ectoparasites 20,22% prevalence of mites in mice and 30,33% prevalence was found in rats.

Therefore it is recommended to follow the instructions of procedures for grooming vivarium.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1. ÁLVAREZ, M y otros.,** Manual de Técnicas en Microbiología clínica., 2 ed., Quito – Ecuador., Graficart; 1995., Pp. 166-168
- 2. AGHINA, C.,** Cría de ganado y animales de granja., 1ed., Barcelona – España., Ediciones ceac., 2000., Pp. 33-40, 71-86.
- 3. BARBADO, J.,** Cría de conejos., 1 ed., Buenos Aires – Argentina., Editorial Albatros., 2003., Pp. 36-47., 104.
- 4. DÁVILA, A y otros.,** Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal., 1ed., Madrid – España., McGraw Hill., 2001., Pp. 3-22.
- 5. EDITORIAL MERCURIO S.A.,** Producción y Crianza del conejo., 1aed., Lima – Perú., Editorial Mercurio., 1994., Pp 144-147
- 6. GOLZALES, L y otros.,** Manuales para educación agropecuaria conejos. Área: Producción Animal., 3ed., México D. F.- México., Editorial Trillas., 1996., Pp. 25, 50-52, 57-70, 97-106.
- 7. MAYOLAS, E.,** Conejo para carne., 2 ed., Buenos Aires – Argentina Hemisferio Sur., 2004., Pp. 102-107.
- 8. PRELOOKER, M.,** Usted Puede Criar Conejo., 3 ed., Buenos Aires – Argentina., El Ateneo., 1999., Pp. 111-115.

- 9. SANCHEZ, A.,** Proyecto de sistema de alcantarillado., 1 ed., México D.F.- México., Zacatenco., 2009., Pp. 87-88
- 10. SÁNCHEZ, C.,** Crianza y Comercialización de conejos., 1 ed., Lima –Perú., Ediciones Ripalme., 2002., Pp. 30-36, 64-67.
- 11. VERREY, J.,** Control y calidad del agua., 1968., 1ed., México D.F. – México., Editorial hispano América., 1968., Pp. 13-16, 31-47.
- 12 .ZUÑIGA, J y otros.,** Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal., México D.F. – México., McGraw-Hill Interamericana., 2001., Pp. 682.
- 13 .ZUÑIGA, M.,** Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal., 1ed., Madrid – España., McGraw-Hill- Interamericana., 2001., Pp. 109-153.
- 14. AGÜERO, A.,** Revista Científica., Introducción de la antisepsia y asepsia en Argentina., 1 ed., Buenos Aires – Argentina., Redalig., Revista del Hospital J. M. Ramos Mejía., Vol. 15., No. 3., 2012., Pp. 1-12.
E-Book: <http://www.ramosmejia.org.ar/r/201203/385.pdf>
- 15. ALONSO, G y otros.,** Revista Científica., Evaluación de la resistencia a agentes desinfectantes de bacterias aisladas de ambientes naturales., 1 ed., Caracas – Venezuela., Scielo., Revista Sociedad Venezolana Microbiología., Vol. 31., No. 2., 2011., Pp. 1-2
E-Book: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S13
- 16. ANGELILLO, I y otros.,** Revista Científica., HACCP and food hygiene in hospitals: knowledge, attitudes, and practices of food-services staff in Calabria., 1 ed., Calabria – Italia., PubMed., Revista Italy. Infect Control Hosp Epidemiol., Vol. 22., No. 6., 2011., Pp.9-363.
E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11519914>

- 17. ARÉCHIGA, H.,** Revista científica., El uso de animales en el laboratorio de experimentación., 1 ed., México D.F. – México., Scielo., Revista Elementos Ciencia y cultura., Vol. 36., No. 6., 2000., Pp. 1-13

E-Book: <http://www.elementos.buap.mx/num36/htm/13.htm>

- 18. ARTHUR, T y otros.,** Revista científica., *Escherichia coli* O157 Prevalence and Enumeration of Aerobic Bacteria, Enterobacteriaceae, and *Escherichia coli* O157 at Various Steps in Commercial Beef Processing Plants., 1 ed., Chicago –USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 67., No. 1., 2004., Pp.658-665

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15083715>

- 19. ARREGUÍN, V y otros.,** Revista científica., Asepsia, uno de los grandes logros del pensamiento., 1 ed., México D.F. – México., Redalig., Revista digital Universitaria., Vol. 13., No. 8., 2012., Pp.1-11

E-Book: <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num8/art79/art79.pdf>

- 20. BACON, R y otros.,** Revista científica., Microbial populations on animal hides and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination., 1 ed., Chicago – USA., Copyright., Journal of Food protection., Vol. 63., No.1., 2000., Pp. 1080-1086.

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10945584>

- 21. BAGGE, R y otros.,** Revista científica., Comparasion of sodium hypochlorite-based foam and peroxyacetic acid based for sanitizing procedures in a salmon smokehouse: survival of the microflora and *Listeria monocytogenes*., 1 ed., Chicago USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 66., No. 1., 2003., Pp. 592-598.

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12696681>

- 22. BAGGE, R y otros.,** Revista científica., The microbial ecology of processing equipment in different fish industries analysis of the microflora during processing and following cleaning and didinfection., 1ed., Chicago –

USA., PubMed., Internacional Journal of Food Microbiology., Vol. 87., No. 1., 2003., Pp. 239-250

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14527796>

- 23. BELLO, F.,** Revista científica., Manuel de Limpieza, desinfección y esterilización en el ámbito del transporte sanitario urgente., 1 ed., Barcelona – España., Ciber Revista., Revista científica de la sociedad de enfermería de urgencias y emergencias., Vol. 16., No.11., 2010., Pp. 1-2

E.Book: <http://www.enfermeriadeurgencias.com/ciber/noviembre>

- 24. BESNARD, V y otros.,** Revista científica., Evidence of Viable But Non-Culturable state in *Listeria monocytogenes* by direct viable count and CTC-DAPI double staining; Ceón., 1 ed., Boston – USA., PubMed., Food Microbiology., Vol. 17., No.1., 2000., Pp. 697-704.

E-Book:

<http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.elsevier>

- 25. BEUCHAT, L.,** Revista científica., Surface decontamination of fruit and vegetables eaten raw: A review Report WHO/FSE/FOS98.2., 2 ed., Georgia – USA., PubMed., Food Safety., Vol. 32., No.1., 1998., Pp. 56

E-Book: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/surf

- 26. BLOOMFIELD, S y otros.,** Revista científica., Comparative testing of disinfectant and antiseptic products using proposed European suspension testing methods., 1 ed., New Orleans – USA., Copyright., Letters in Applied Microbiology., Vol. 15., No. 1., 1998., Pp.233-237

E-Book: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1472765X.1991.tb>

- 27. BOER, E.,** Revista científica., Methodology for detection and typing of foodborne microorganisms., 1ed., Chicago – USA., PubMed., International Journal of Food Microbiology., Vol. 50., No.1., 1999., Pp. 119-130

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10488848>

- 28. BOSILEVAC, J y otros.,** Revista científica., Prevalence of *Escherichia coli* O157 and levels of bacteria and Enterobacteriaceae are reduced when hides are washed and treated with cetylpyridinium chloride at a commercial beef processing plant., 1 ed., Colorado – USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 67., No. 1., 2004., Pp. 646-650

E-Book: <http://afrsweb.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/20046.pdf>

- 29. BOSILEVAC, J.,** Revista científica., Development and Evaluation of an On-Line Hide Decontamination Procedure for Use in a Commercial Beef Processing Plant., 1 ed., Kansas – USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol 68., No. 1., 2005., Pp. 265-272.

E-Book: <http://afrsweb.usda.gov/SP2UserFiles/Place/54380530/2005.pdf>

- 30. BOULANGÉ, P y otros.,** Revista científica., Processes of bioadhesion on stainless Steel surfaces and cleanability: a review with special reference to the food industry., 1 ed., Chicago – USA., Copyright., Biofouling., Vol. 10., No. 1., 1996., Pp. 275-300

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22115182>

- 31. BOULANGÉ, P.,** Revista científica., Adhesion of *Streptococcus thermophilus* to stainless Steel with different Surface topography and roughness., 1 ed., Kansas – USA., Copyright., Biofouling., Vol. 11., No 1., 1997., Pp. 201-216.

E-Book: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927019>

- 32. BOYD, R y otros.,** Revista científica., Cleanability of soiled stainless Steel as studied by atomic force microscopy and time of flight secondary ion mass spectrometry., 1 ed., Chicago – USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 64., No. 1., 2001., Pp. 64, 87-93.

E-Book: <http://e-space.mmu.ac.uk/e-space/handle/2173/71073>

- 33. BREDHOLT, S y otros.,** Revista científica., Microbial methods for assessment of cleaning and disinfection of food-processing surfaces cleaned in a low-pressure system., 1 ed., Barcelona – España., Realig., European Food Research and Technology., Vol. 209., No. 1., 1999., Pp. 145-152

E-Book: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs002170050474#pag>

- 34. BREEUWER, P y otros.,** Revista científica., Assessment of viability of microorganisms employing fluorescence techniques., 1 ed., Londres – Inglaterra., PubMed., International Journal of Food Microbiology., Vol 55., No 1., 2000., Pp. 26-32

E-Book: <http://edepot.wur.nl/200281>

- 35. BUNTHOF, C.,** Revista científica., Rapid Fluorescence Assessment of the Viability of Stressed *Lactococcus lactis*., 1 ed., Valencia – España., Redialig., Applied and Environmental Microbiology., Vol. 65., No. 1., 1999., Pp. 3681-3689

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10427066>

- 36. BURGUET, N y otros.,** Revista científica., Evaluación de la efectividad de un desinfectante mediante el método de placas de contacto., 1 ed., Habana – Cuba., Scielo., Revista Cubana de Farmacia., Vol. 47., No. 2., 2013., Pp.2-9

E-Book: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S003475152013000200006&s>

- 37. CABALLERO, A y otros;** Revista científica., Causas más frecuentes de problemas sanitarios en alimentos., 1 ed., Habana – Cuba., Scielo., Revista Cubana Alimentos Nutritivos., Vol. 12., No 1., 1998., Pp.20-3.

E-Book: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_1_98/ali04198.htm

- 38. CALICIOGLU, M y otros.,** Revista científica., Effectiveness of praying with Tween 20 and lactic acid in decontaminating inoculated *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous *Escherichia coli* biotype 1 on beef., 1 ed., Chicago – USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 65., No. 1., 2000., Pp. 65, 26-32.

E-Book:

<http://www4.agr.gc.ca/resources/prod/doc/sci/pub/pdf/1181932234470>

- 39. CARBALLO, J.,** Revista científica., Desinfección y esterilización., 1 ed., México D.F. – México., Copyright Imbiomed., Vol. 5., No 59., 2009., Pp. 1-14

E-Book:http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=57573&id_seccion=2368&id_ejemplar=5827&id_revista=144

- 40. CARO, A y otros.,** Revista científica., Viability and virulence of experimentally stressed nonculturable Salmonella Typhimurium., 1 ed., Kansas – USA., PubMed., Applies and Environmental Microbiology., Vol. 65., No 1., 1999., Pp. 3229-2323.

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91479/>

- 41. CARPENTIER, B.,** Revista científica., Biofilm and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry., 1 ed., Chicago – USA., PubMed., Journal Applied of Bacteriology., Vol 75., No 1., 1993., Pp. 499-511.

E-Book:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.13652672.1993.tb01587.x/abstract>

- 42. CASAMADA, N.,** Revista científica., Guía práctica de la utilización de antisépticos en el cuidado de heridas., 1 ed., Barcelona – España., Reladig., Revista Infosalvat., Vol. 1., No.1., 2002., Pp. 1-30

E-Book:

<http://www.salvatbiotech.com/Content/Media/45fcBaa337de402fbc1152e0947ccce5/GuiaAntisepticos.pdf>

- 43. CASTILLO, A y otros.,** Revista científica., Comparison of wáter wash, trining, and combined hot wáter and lactic acid treatment for reducing bacteria of fecal origino n beef carcasses., 1 ed., Chicago – USA., PubMed., Journal of Food Protection., Vol. 61., No 1., 1998., Pp. 823-828.

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9678163>

- 44. CORREDERAS, R.,** Revista científica., Estructura de un Laboratorio de Microbiología., 1 ed., Bogotá – Colombia., Scielo., Revista digital científica., Vol. 15., No 6., 2008., Pp. 1-12.

E-Book:

http://www.csicsif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_3/LABORATORIO%20MICROBIOLOGIA_rosarioalbors.pdf

- 45. COVOS, D.,** Revista científica., Metodología para el control microbiológico de áreas controladas., 1 ed., Habana – Cuba., Scielo., Ciencias Holguín., Vol. 15., No. 4., 2000., Pp.1-11

E-Book:

<http://www.ciencias.holguin.cu/index.php/cienciasholguin/article/view/524/396>

- 46. CHAMPIAT, A y otros.,** Revista científica., Aplications of biochemiluminescence to HACCP., 1 ed., Colorado – USA., PubMed., Luminescence., 2001., Vol. 16., No. 1., 2001., Pp. 193-198

E-Book: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11312547>

- 47. CHATONNET, P.,** Revista científica., Limpieza y desinfección aplicadas a recipientes de madera destinados a la vinificación y crianza de vinos., 1 ed., Caracas – Venezuela., Radalig., Revista Enología., Vol. 3., No. 4., 200., Pp. 2-20

E-Book:

http://www.revistaenologia.com/pdf/n21_ENOPonencia_Pascal__higiene_.pdf

- 48. DONATE, A y otros.,** Revista científica., Muestreo del aire, ¿Con placa de contacto o con placa petri?., 1ed., Barcelona – España., Revista Técnicas de Laboratorio., Vol. 4., No. 7., 2000., Pp. 256.

E-Book: <http://www.microkit.es/publicaciones.htm>

- 49. DUQUE, L.**, Revista científica., Protocolos exigentes organizan la higiene hospitalaria., 1 ed., Bogotá – Colombia., Revista Limpiezas., Vol. 1., No. 1., 2013., Pp. 1-10

E-book: <http://www.revistalimpiezas.es/limpieza->

- 50. GARCÉS, L y otros.**, Revista científica., Bioética en la experimentación científica con animales: cuestión de reglamentación o de actitud humana., 1 ed., Antioquia – Colombia., Redalig., Revista Lasallista de Investigación., Vol. 9., No. 1., 1998., Pp. 159-166

E-Book: <http://www.redalyc.org/pdf/695/69524955012.pdf>

- 51. GÓMEZ, M.**, Revista Agropecuaria., Técnicas Efectivas de limpieza y desinfección avícola., 1 ed., Caracas – Venezuela., Agro Vet., Agro Revista Industrial del Campo., Vol. 35., No. 19., 2009., Pp. 1-2

E-Book: <http://www.2000agro.com.mx/pecuarioypesquero/tecnicas-efectivas-de-limpieza-y-desinfeccion-avicola/>

- 52. JIMÉNEZ, R.**, Revista científica., El Problema de la Infecciones Estaphylococcicas en hospitales; San José – Costa Rica., 1 ed., Revista Médica de Costa Rica., Vol. 337., No. 1., 2000., Pp. 1-40

E-Book: [http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/XIX\(337\).pdf](http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/XIX(337).pdf)

- 53. LABORA, F.**, Revista Científica., Infecciones nosocomiales., 1 ed., Caracas – Venezuela., Redalig., Revista Tecnológica médica., Vol. 45., No 1., Pp. 6-64

E-Book: http://www.temashospitalarios.com.ar/pdf/TH_18.pdf

- 54. LÓPEZ, B.**, Revista Científica., Experimentación animal, caídos por la ciencia., 1 ed., Bogotá –Colombia., Redalig., Revista Salud y Medicina., Vol. 23., No. 11., 1997., Pp. 1-3

E-Book: [http://www.elmundo.es/salud\(Snumeros/97/S231](http://www.elmundo.es/salud(Snumeros/97/S231)

- 55. LLORCA, I.**, Revista Científica., Ozono como alternativa desinfectante de equipos y superficies en la industria alimentaria., 1 ed., Bogotá – Colombia., Revista limpiezas., Vol. 9., No. 1., 2006., Pp. 1-3

E-Book: <http://www.revistalimpiezas.es/limpieza-aplicada/hosteleria/ozono-como-alternativa-desinfectante-de-equipos-y-superficies-en-la-industria-alimentaria>

- 56. MUÑOZ, E y otras.**, Revista Veterinaria., El uso de animales en el laboratorio de experimentación., 1 ed., Valencia – España., Agro Vet., Revista electrónica de Veterinaria., 2007., Vol. 8., No. 2., 2007., Pp. 5

E-Book: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010107.html>

- 57. PÉREZ, H y otros.**, Revista Científica., Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procedimiento aséptico., 1 ed., Buenos Aires – Argentina., Redalig., Red de Revistas Científicas de América latina Caribe España y Portugal., Vol. 44., No. 3., 2003., Pp. 7-14.

E-Book: <http://www.redalyc.org/pdf/2231/223120684002.pdf>

- 58. PÉREZ, L y otros.**, Revista Científica., Infecciones Intrahospitalarias: Agentes, Manejo Actual y Prevención., 1 ed., Buenos Aires – Argentina., Redalig., Revista Científica Ciencia Medicina., Vol. 13., No. 2., 2010., Pp. 3

E-Book:

<http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S1817743320>

10000200009&script=sci_arttext

- 59. QUILES, A y otros.**, Revista Científica., Control del agua en las explotaciones avícolas., 1 ed., Barcelona – España., Redalig., VET – UY Agro y Veterinaria., Vol. 47., No. 89., 2005., Pp. 72-78

E-Book: <http://www.vet-uy.com/articulos/avicultura/050047/avic047.htm>

- 60. RODRÍGUEZ, A y otros.**, Revista Científica., Uso de desinfectantes vía oral en pollos de engorde: efectos sobre el estado de salud y desempeño

productivo., 1 ed., Venezuela – Colombia., Revista. Facultad Ciencias. Veterinarias., Vol. 53., No. 1., 2012., Pp. 23

E-Book:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S025865762012000100004&script=sci_arttext

- 61. RODRÍGUEZ, A y otros.,** Revista Científica., Procedimientos antimicrobianos. Parte I: la desinfección en instituciones de salud., 1 ed., México D.F. – México., Copyright., Revista Cubana Higiene Epidemiológico., Vol. 45., No. 2., 2007., Pp. 1-3.

E-Book:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156130032007000200009

- 62. RODRÍGUEZ, P.,** Revista Científica., La desinfección-antisepsia y esterilización en la atención primaria de salud. Laboratorios., 1 ed., Habana – Cuba., Scielo., Revista Cubana Medicina General Integral., Vol. 22., No.3., 2006., Pp. 1-2

E-Book:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086421252006000

- 63. SANTAFE, C.,** Revista Científica., Cuidados en Animales de Laboratorio, Programa de Biología., 1 ed., Bogotá – Colombia., Patología Clínica., Vol. 54., No. 2., 2007., Pp. 59-71

E-Book:

http://www.ins.gob.pe/insvirtual/imagenes/otrpubs/pdf/GUIA_ANIMALES.pdf.

- 64. TORRES, A y otros.,** Revista Científica., Guía para la confección de programas de limpieza y desinfección en establecimientos de alimentos., 1 ed., Habana – Cuba., Scielo., Revista Cubana Alimentos Nutritivos., Vol. 16., No. 1., 2002., Pp.77-80

E-Book: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali12102.pdf

- 65. WEIS, C y otros.**, Revista Científica., Secondary Aerosolization of Viable Bacillus anthracis Spores in a Contaminated US Senate Office., 1 ed., Chicago – USA., JAMA®, The Journal of American Medical Association., 2002., Vol. 288., No. 22., 2002., Pp. 2853-2558.

E-Book:

<http://3A%2F%2Fjamanetwork.com%2Fdata%2FJournals%2FJAMA%2F4859%2FJOC21393.pdf>

- 66. ZABALA, A y otros.**, Revista Científica., Situación de los desinfectantes de uso ambiental y en industria alimentaria registrados en España tras la publicación de la directiva 98/8/CE; 1 ed., Madrid – España., Redialig., Revista. Española. Salud Pública., Vol. 85., No. 2., 2011., Pp. 1-2.

E-Book:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S113557272011000200006&script=sci_arttext

- 67. ZUÑIGA, S.**, Revista Científica., En relación con el advenimiento de la antisepsia y la asepsia en la cirugía chilena., 1 ed., Valparaíso – Chile., Copyright., Revista. Chilena de Cirugía., Vol. 55., No. 3., 2003., Pp.28-280

E-Book:

[http://www.revistacirugia.cl/PDF%20Cirujanos%202003_03/Rev.Cir.3.03.\(15\).AV.pdf](http://www.revistacirugia.cl/PDF%20Cirujanos%202003_03/Rev.Cir.3.03.(15).AV.pdf)

- 68. ECUADOR; INSTITUTO DE NORMALIZACIÓN ECUATORIANA;** (INEN) Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos; NTE INEN 1 529-5 (2006); Quito – Ecuador; INEN 2006; p. 6.

E-Book: <http://law.resource.org/pub/ec.nte.1529.5.2006.pdf>

- 69. ECUADOR; INSTITUTO DE NORMALIZACIÓN ECUATORIANA;** (INEN); Control microbiológico de los alimentos toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico NTE INEN 1 529-5 (2006); Quito – Ecuador; INEN 2006; p. 8.

E-Book: <http://law.resource.org/pub/ec./ibr/ec.nte.1529.2.1999.pdf>

70. ECUADOR; INSTITUTO DE NORMALIZACIÓN ECUATORIANA;
(INEN); Agua potable – Requisitos; NTE INEN 1108 (2011);

E-Book: <http://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1108.2011.pdf>

71. AGUILAR, E., Bioética y Normatividad en el uso de animales en investigación en América latina., Escuela Superior de Medicina., Sección de Estudios de programas e Investigación., Instituto Politécnico Nacional., Buenos - Aires., **Tesis.**, 2008., Pp. 12-19

E-Book:

[http://tesis.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/4426/1/BIOETI
CANORMAT.pdf](http://tesis.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/4426/1/BIOETI
CANORMAT.pdf)

72. AGUILAR, M., Uso de los animales en la investigación., Escuela Superior de Medicina., Maestría en Ciencias en Bioética., Instituto Politécnico Nacional de México., México D.F – México., **Tesis.**, 2008., Pp. 46

E-Book: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/89/4426/1/NORMAT.pdf>

73. ALBA, N., Evaluación de los desinfectantes usados en el proceso de limpieza y desinfección del área de Fitoterapéuticos en laboratorios PRONABELL Ltda., Facultad de Ciencias., Carrera Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2008., Pp. 35-56

E-Book <http://www.javeriana.edu.co/biblios/tesis/ciencias/tesis232.pdf>

74. ARTEAGA, E., Limpieza y Bioseguridad hospitalaria y su impacto en la salud y el medio ambiente en el hospital “Sal Luis de Otavalo, Servicio de cirugía”.., Facultad de la salud., Escuela de Enfermería., Universidad Técnica del Norte., Otavalo – Ecuador., **Tesis.**, 2009; Pp. 53-61

E-Book:

[http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/690/2/06%20ENF
%20421%20TESIS.pdf](http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/690/2/06%20ENF%20421%20TESIS.pdf)

75. ÁVILA, G., Calidad Microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona de Cundinamarca., Facultad de Ciencias., Carrera Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2009., Pp. 67

E-Book: <http://www.javeniana.edu.co/biblios/tesis/ciencias/tesis150.pdf>

- 76. BADILLO, J.,** Manual del laboratorio de cultivo de tejidos., Biotecnología., Departamento de bioprocesos., Instituto Politécnico Nacional Unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología., México D.F. – México., **Tesis.**, 2009., Pp. 38-67.

E-Book:

<http://www.biblioteca.upibi.ipn.mx/Archivos/Material%20Didactico%20Didactico/Manual%20del%20Laboratorio%20de%20Cultivo%20de%20Tejidos%20.pdf>

- 77. BARAHONA, S.,** Estudio microbiológico del material particulado atmosférico de Santiago mediante herramientas de biología molecular., Facultad de ciencias forestales y conservación de la naturaleza., Magíster en gestión y planificación ambiental., Universidad de Chile., Valparaíso – Chile., **Tesis.**, 2010., Pp. 12-65.

E-Book: <http://mgpa.forestaluchile.cl/Tesis/Salvador%20Barahona.pdf>

- 78. BATTISTINI, F.,** Normas Básicas de Bioseguridad en los Laboratorios Públicos y Privados de la ciudad de Bolívar-Edo. Bolívar., Facultad de Ciencias de la Salud., Carrera Bioanálisis., Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar Bolívar., Bolívar – Ecuador., **Tesis.**, 2009., Pp. 11 14

E-Book:

[http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/123456789/284406-TESIS.NORMAS BASICAS DE BIOSEGURIDAD EN LOS LABORATORIOS PUBLICOS Y PRIVADOS DE CIUDAD BOLIVAR.pdf](http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/123456789/284406-TESIS.NORMAS%20BASICAS%20DE%20BIOSEGURIDAD%20EN%20LOS%20LABORATORIOS%20PUBLICOS%20Y%20PRIVADOS%20DE%20CIUDAD%20BOLIVAR.pdf)

- 79. BUENAÑO, V.,** Determinación de Buenas Prácticas de Producción de Ratas (*Rattus norvegicus*) en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., **Tesis.**, 2010; Pp. 23-75

E-Book: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/123456789/1578/1/56T00249.pdf>

- 80. CALLEJAS, L.,** Verificación del Proceso de Limpieza y Desinfección de los Laboratorios: Aguas y lodos, Inmunología especializada y Citometría de

flujo Microbiología de alimentos, Microbiología Ambiental y de Suelos., Facultad de Ciencias., Carrera Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2009., Pp. 25

E-Book: <http://www.javeriana.edu.co/biblios/tesis/ciencia/tesis214.pdf>

- 81. CASTIBLANCO, A.,** Verificación comparativa de métodos de bioluminiscencia y método tradicional de limpieza y desinfección en una industria cosmética., Facultad de Ciencias Básicas., Carrera en Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2010., Pp. 74

E-Book: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis127.pdf>

- 82. CÓRDOVA, Y.,** Calidad del aire en ambientes interiores: Contaminantes Biológicos., Facultad de Ingeniería., Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental., Universidad central de Venezuela., Caracas – Venezuela., **Tesis.**, 2000., Pp. 43

E-Book: <http://saber.ucv.ve/xmlui/bitstream/123456789/1237/1/Tesis.pdf>

- 83. DE LA ROSA, C.,** Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica., Facultad de Farmacia., Departamento de Microbiología II., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2000., Pp. 28-31

E-Book:

<http://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/viewFile/43/82>

- 84. DÍAS, L.,** Manual de limpieza y desinfección de superficies hospitalarias., Ciencias de la Salud; Enfermería., Universidad Nacional., Brazilia – Brasil., **Tesis.**, 2010; Pp. 56

E-Book: <http://www.msp.gub.uy/andocasociado.aspx?4806,20196>

- 85. DIAZ, M.,** Elaboración del plan de mejoras y el programa de limpieza y desinfección para la empresa carnevali en la ciudad de Cucutá., Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente., Ingeniería de Producción

Agroindustrial., Universidad Francisco de Paula Santander., Cucutá – Colombia., **Tesis.**, 2008., Pp. 64

E-Book: <http://es.scribd.com/doc/74186436/TESIS-CARNEVALI>

- 86. FERNÁNDEZ, R.**, Dinámica de las bacterias de interés sanitario adheridas a partículas en un embalse de abastecimiento., Facultad de farmacia., Universidad Complutense de Madrid., Madrid – España., **Tesis.**, 1994., Pp. 37

E-Book: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/1/AD1022501.pdf>

- 87. FUENTES, L.**, Estudio de parámetros Microbiológicos que afectan la calidad del Queso tipo Gouda., Facultad de Ciencias Agrarias., Escuela de Ingeniería en Alimentos., Universidad Austral de Chile., Santiago de Chile - Chile; **Tesis.**, 2003., Pp. 33

E-Book: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/faf954e/doc/faf954e.pdf>

- 88. FUSTER, N.**, Importancia del control higiénico en las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas., Facultad Veterinaria de Barcelona., Departamento de ciencia animal y de los alimentos., Universidad Autónoma de Barcelona., Barcelona – España., **Tesis.**, 2006., Pp. 46

E-Book:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5683/nfv1de1.pdf;jsessionid=6CCB3EA9F18E330A8EEB2A92E0ECD58E.tdx2?sequence=1>

- 89. GIRÓN, A.**, Determinación de la calidad microbiológica de la refacción escolar de la escuela pública “República Federal de Centroamérica” del municipio de San Lucas Sacatepéquez, Sacatepéquez, Guatemala., Facultad de ciencias químicas y farmacia., Universidad de San Carlos de Guatemala., Sacatepéquez – Guatemala., **Tesis.**, 2006., Pp. 48

E-Book: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2567.pdf

- 90. GONZALES, A.**, Diagnóstico inicial de parásitos gastrointestinales a través de los métodos de Flotación, Hakurua Ueno y Graham modificado, en asnos

(Equus asinus) de la aldea Maraxco del municipio de Chiquimula; Chiquimula., Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia., Carrera de Medicina Veterinaria., Universidad de San Carlos de Guatemala., Sacatepéquez – Guatemala., Tesis., 2007., Pp.14-55

E-Book: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1057.pdf

- 91. GONZALES, J.,** Estudio histológico Histomorfométrico de la respuesta ósea frente a un material biosintético compuesto por ácido poláctico-poliglicólico en un modelo de experimentación animal., Facultad de lo Odontología., Departamento de Estomatología Madrid., Universidad Complutense de Madrid., Madrid – España., **Tesis.**, 2006., Pp.23-56

E-Book: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/odo/ucm-t29033.pdf>

- 92. GUAMAN, A.,** Validación técnica del proceso de producción de las chichas de Jora y Morada, elaboradas por la Fundación Andinamarca, Calpi – Riobamba., Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., **Tesis.**, 2013., Pp. 67

E-Book:

<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2619/1/56T00391.pdf>

- 93. HIDALGO, A.,** Validación del Método de Limpieza de la envasadora de polvos dos micro después de la producción de Bencilpenicilina Sódica en BETAPHARMA S.A., Facultad de Ciencias., Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba – Ecuador., **Tesis.**, 2010., Pp. 68

E-Book:

<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/701/1/56T00231.pdf>

- 94. LEÓN, F.,** La experimentación animal y la salud humana. Nuestros deberes éticos con los demás seres vivos., Facultad de Medicina., Centro Bioética de Santiago de Chile., Pontificia Universidad Católica de Chile., Santiago de Chile – Chile., **Tesis.**, 2009., Pp. 34

E-Book:

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27953/3/articulo6.pdf>

- 95. MÁRQUEZ, R.,** Determinación de la cultura sobre el uso de los animales de laboratorio existentes en los investigadores de la Universidad de los Andes., Facultad de Ciencias., Departamento de Biología., Universidad de los Andes., Mérida – Venezuela., **Tesis.**, 1993., Pp.65

E-Book: <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v30n1/rsa02108.pdf>

- 96. MONTAÑEZ, V.,** Métodos convencionales rápidos y alternativos para el control microbiológico de la higiene en superficies., Facultad de Veterinaria., Universidad Autónoma de Barcelona., Barcelona – España., **Tesis.**, 2013., Pp. 41

E-Book:

http://ddd.uab.cat/pub/tesis/2013/hdl_10803_12654/vymi1de1.pdf

- 97. PÉREZ, D.,** Revisión y actualización del sistema de limpieza y desinfección de Anglapharm S.A., Facultad de Ciencias, Carrera Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2008., Pp. 49

E-Book: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis205.pdf>

- 98. SOLDADO, N.,** Condiciones de Seguridad y Salud en los Centros de Experimentación Animal., Facultad de Veterinaria., Universidad de Córdoba., Córdoba – España., **Tesis.**, 2003; Pp. 23

E-Book:

<http://www.ceigram.upm.es/sfs/otros/ceigram/Nah%C3%BAm%20Ayala%20Soldado%20tesina.PDF>

- 99. SUANCA, D.,** Diseño de un programa de limpieza y desinfección para la casa de banquetes Gabriel”, Actual administradora del casino de la empresa algarra S.A., Facultad de Ciencias, Carrera Microbiología Industrial., Pontificia Universidad Javeriana., Bogotá – Colombia., **Tesis.**, 2003., Pp. 22

E-Book: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis141.pdf>

- 100. TELLO, O.**, Evaluación de un método eficaz y eficiente para la industria de bebidas carbonatadas., Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química., Universidad San Carlos de Guatemala., Ciudad de Guatemala – Guatemala., **Tesis.**, 2009., Pp.38

E-Book: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1145_Q.pdf

- 101. VALLADARES, G.**, Manual para la disposición de medicamentos caducados., Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba –Ecuador., **Tesis.**, 2009., Pp. 89

E-Book:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/213/1/56T00187.pdf>

- 102. VÁSQUEZ D;** Evaluación de metodología de control higiénico de superficies alimentarias y adaptación del PCR en tiempo real con método de control de patógenos., Facultad de Veterinaria, Departamento de ciencia animal y de alimentos., Universidad Autónoma de Barcelona., Barcelona – España., **Tesis.**, 2007., Pp. 75

E-Book:

<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5708/dis.pdf>

ANEXO A

PROCEDIMIENTO

Limpieza

Desinfección

Bioterio De la Facultad de
Ciencias de la ESPOCH



INDICE

1 OBJETIVOS	102
2 ALCANCE	10;Error! Marcador no definido.
3 REFERENCIAS	10;Error! Marcador no definido.
4 GENERALIDADES	104
4.1 Conceptos básicos.	104
4.1.1 Limpieza:	104
4.1.2 Desinfección	104
4.1.3 Saneamiento	105
4.1.4 Esterilización.....	105
4.1.5 Zonas de riesgo	105
4.2 Suciedad.....	105
4.2.1 Eliminación de la suciedad.....	106
4.2.2 Clases de suciedad	106
4.3 Sustancias limpiadoras	106
4.3.1 Clasificación de detergentes.....	107
4.4 Relación superficie - suciedad	108
4.5 Técnicas de limpieza	109
4.6 Desinfección.....	109
4.6.1 Clasificación	110
4.6.2 Recomendación de concentraciones a emplear	112
4.6.3 Características de un desinfectante ideal.....	112
5 DESCRIPCIÓN	11;Error! Marcador no definido.
5.1 Procedimiento de Limpieza y desinfección de manos	113
5.2 Procedimiento de Limpieza y desinfección de pisos	114
5.3 Procedimiento de Limpieza y desinfección de paredes.	116
5.4 Procedimiento de Limpieza y desinfección de estantes.	118
5.5 Procedimiento de Limpieza y desinfección de vidrios.....	120
5.6 Procedimiento de Limpieza y desinfección de jaulas	122
5.7 Procedimiento de Limpieza y desinfección de bebederos	124
5.8 Procedimiento de Limpieza y desinfección de comederos.	125
5.9 Procedimiento de Limpieza y desinfección de tapones de los bebederos.	127
5.10 Procedimiento de Limpieza y desinfección de trapeadores	129
6 REGISTROS	1;Error! Marcador no definido.0
7 ANEXO 1. PLAN MAESTRO DE LIMPIEZA	13;Error! Marcador no definido.

1. OBJETIVOS

- Servir de guía para una correcta de limpieza y desinfección en las áreas de mantenimiento y maternidad del bioterio para brindar inocuidad en los especímenes y de este modo lograr una buena calidad experimental de los mismos con resultados exactos, precisos y reproducibles.
- Designar responsabilidades en lo que se refiere al cumplimiento de los protocolos de limpieza y desinfección de las áreas de alojamiento de los animales.
- Servir de base para el análisis de puntos críticos posteriores para generar las correcciones respectivas.

2 ALCANCE

Los procedimientos de limpieza y desinfección son aplicables a las áreas de mantenimiento y maternidad para mantener niveles bajos de la contaminación microbiológica existente tanto en el macro como microambiente del mismo.

3 REFERENCIAS

1. UNIVERSIDAD DE PAMPLONA. CENTRO DE PREPARACIÓN DE MEDIOS. MANUAL DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

E-Book:

http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallIG/home_9/recursos/01_general/contenidos/laboratorios/guiasyfichas/25022008/manualdelimpiezaydesinfeccion.pdf

19/01/2014

2. MANUAL DE LIMPIEZA, DESINFECCIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES EN EL LABORATORIO CLÍNICO

E-Book:

<http://www.monografias.com/trabajos89/limpieza-desinfeccion-materiales-laboratorio-clinico/limpieza-desinfeccion-materiales-laboratorio-clinico.shtml#ixzz2tS2J12Lt>

21/01/2014

3. GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTOS EN LA LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN HOSPITALARIA

E-Book:

http://www.inper.edu.mx/descargas/pdf/Tecnicas_limpieza-licitacion.pdf

21/01/2014

4. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

E-Book:

http://www.ina.ac.cr/industria_alimentaria/curso_manipulacion_alimentos/documentos%20manipulacion/capitulo%207.pdf

21/01/2014

5. MANUAL DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

E-Book: <http://hospitalmunicipalsanroque.gov.co/uploads/descargad/24.pdf>

21/01/2014

6. MANUAL DE LIMPIEZA HIGIENE Y DESINFECCIÓN

E-Book: <http://www.taringa.net/posts/apuntes-y-monografias/10443220/Manual-de-limpieza-higiene-y-desinfeccion.html>

19/01/2014

7. MANUAL DEL PROCEDIMIENTO DE ASEO

E-Book:

<http://www.ministeriopublico.gob.pa/minpub/Portals/0/Manuales/Manual%20de%20Procedimientos%20de%20Aseo.pdf>

19/01/2014

4 GENERALIDADES

4.1 CONCEPTOS BASICOS.

4.1.1 LIMPIEZA:

Es el proceso previo a la desinfección y esterilización consiste en remover el material extraño que se encuentra adherido a los diferentes objetos y lo contaminan. Se realiza con agua, detergentes y diferentes productos enzimáticos, con ayuda de este proceso se puede reducir en 3-4 logaritmos la contaminación microbiana inicial. Si el objeto no está limpio los procesos posteriores de desinfección y esterilización no serán eficaces y actuará protegiendo a las bacterias de la desinfección. Los objetivos de la limpieza son:

- Asegurar la calidad óptima mediante la reducción de microorganismos.
- Cumplir las requerimientos estéticas que son los más visibles
- Devolver el regular funcionamiento de las áreas con sus utensilios luego de su ocupación.
- Alargar la vida útil de las instalaciones y utensilios

Una superficie puede ser considerada limpia cuando cumple con las siguientes características: sensorialmente limpia, visualmente limpia, macroscópicamente limpia. La limpieza no debe afectar procesos contiguos ni la integridad del material en el cual cumple su función. Limpiar consta de dos procesos lavar y enjuagar en donde primero se separa la suciedad del proceso mediante el lavado ya sea con soluciones, agua fría o caliente si se trata de contaminantes muy difíciles de liminar para posteriormente ser enjuagado o aclarado con abundante agua para eliminar por completo la suciedad. La discrepancia entre limpiar y lavar es que en este último término involucra el uso de agua, en el primero no es preciso.

4.1.2 DESINFECCIÓN

Proceso basado en la eliminación de microorganismos primordialmente patógenos mediante alteración en su estructura y metabolismo provocando su muerte, aunque no siempre se puede eliminar el 100% del nivel bacteriano lo que se busca es reducirlo al máximo posible para que le logre llegar a los nivel aceptables que no perjudique la salud del animal y por ende los resultados experimentales ni la salud del operador

4.1.3 SANEAMIENTO

Es un proceso complejo y completo que involucra la eliminación de patógenos muy peligrosos para la salud como *Mycobacterium tuberculosis*, la misma que requiere técnicas y elementos mucho más precisos que los de la desinfección y su costo busca requisitos superiores a los que normalmente se consigue con métodos simples, aquí se requiere concentraciones, temperaturas y tiempos adecuados de acción.

4.1.4 ESTERILIZACIÓN

Método más completo que la desinfección, mediante uso de altas temperaturas durante un tiempo determinado y a la presión requerida se consigue la destrucción convincente de todas las formas microbianas incluyendo las más difíciles de eliminar como los virus.

4.1.5 ZONAS DE RIESGO

Sitio donde se convierten u operan productos que puede ser sustrato para el desarrollo microbiano y por ende se convierte en focos de infección que pueden poner en riesgo la salud del animal y del hombre.

4.2 SUCIEDAD.

Son residuos de diferente composición que va en dependencia de las sustancias con las que se trabaja o esencialmente del polvo que se acumula, esta suciedad se acumula en superficies, utensilios, objetos, equipos, instrumentos dañando su estética y calidad microbiológica por lo que deben ser eliminados rutinariamente. Los tipos de suciedad que pueden estar presentes son:

- Suciedad libre.- no están adheridas en una superficie y son fáciles de eliminar como el polvo.
- Suciedad adherente.- están sujetas a la superficie y precisan una acción mecánica o química para eliminarlas por su mayor resistencia.
- Suciedad incrustada.- están incrustadas en sitios muy complejos de limpiar como realces y ángulos de la superficie.

Para cada suciedad dependiendo el grado en que esta se encuentre adherida necesita un método de limpieza que debe ser escogido apropiadamente para evitar pérdida de tiempo y de recursos se debe tomar en consideración la penetrabilidad de los materiales, si la mugre está pegada o naturaleza de la superficie para usar productos químicos o agua caliente si se trata de grasa.

4.2.1 ELIMINACIÓN DE LA SUCIEDAD

El propósito de la limpieza es eliminar de la forma más completa y permanente la suciedad de las superficies a limpiar, mediante la eliminación de las fuerzas de adhesión existentes entre los restos y la superficies que pueden ser muy fuertes y requerir de métodos más drástico y débiles y solo requerir una simple fuerza mecánica.

En la eliminación de la suciedad de las superficies participan en conjunto parámetros como la sustancia, tipo de suciedad, superficie y tecnología, todas interviniendo al mismo tiempo y de forma diferente para arrancar la suciedad del material que esta adherido.

4.2.2 CLASES DE SUCIEDAD

TABLA 1. CLASES DE SUCIEDAD EN LA INDUSTRIA CÁRNICA, TÉCNICA DE ACTUACIÓN RECOMENDABLE Y GRADO DE LIMPIEZA ALCANZABLE.

CLASE DE SUCIEDAD	TÉCNICAS DE ACTUACIÓN	GRADO DE LIMPIEZA ALCANZABLE
Grasa	Disolución con agua > 50°C y mecánica (alta presión manual), emulsión con medio limpiador añadido.	Limpieza visual
Proteína sin desecar	Disolución con agua (manual o a máquina)	Limpieza visual
Proteína desecada	Reblandecer, disolver con	La capa adherida persiste con

	mecánica (alta presión, manual)	frecuencia
Proteína desecada y requemada	Reblandecer, disolver con mecánica (alta presión, manual)	Costras, revestimientos y capas adheridas persisten con frecuencia

Fuente: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridadalimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1..pdf>

4.3 SUSTANCIAS LIMPIADORAS

Las sustancias limpiadoras más comunes son los detergente y son usados por sus propiedad espumantes, humedificantes y emulsificantes que ayudan a romper la tensión superficial del agua para que difumine por toda la superficie sucia arrastrando todos los residuos incluyendo lo más duras y adheridos y así lograr una correcta limpieza de la suciedad grosera y evidente a más de eliminar una gran cantidad de microorganismos presentes que contaminan las superficies y ponen en riesgo la salud. Luego del lavado con detergente y acción mecánica de fricción se necesita es un aclarado o enjuague con agua para eliminar las capas de suciedad y los microorganismos que se halla suspendidos en la solución de detergente y agua. Debido a que en el mercado hay una gran variedad de detergentes, su elección dependerá del tipo de suciedad, del material en que está construido el equipo, utensilio o superficie a limpiar, de si las manos entran o no en contacto con la solución, de si se utiliza lavado manual o mecánico y asimismo de las características químicas del agua, en especial de su dureza porque podría formar complejos que desactiven el detergente y por tanto su capacidad de limpieza y en ciertos casos de desinfectante de baja acción se reducirían aún más.

4.3.1 CLASIFICACIÓN DE DETERGENTES

Detergentes alcalinos.- Separan las suciedad más difíciles de tipo orgánico como grasa y proteínas en especial ceras y grasa quemada que puede estar adheridas fuertemente en las superficies de equipos, materiales, utensilios, piso, paredes, etc. Usando su poder álcalis para reaccionar con las sustancias adheridas y lograr que pierdan sus propiedades y poder ser arrastradas en la solución y posteriormente enjuagadas eliminándolas por completo.

Detergentes ácidos.- separa las suciedades calcáreas que están fuertemente adheridas y que no se eliminan fácilmente con otro tipo de detergentes y se usa conjuntamente con

los detergentes alcalinos ayuda a la eliminación de olores indeseables y la disminución eficaz de los recuentos microbianos.

Detergentes neutros.- separa suciedad que no requieren mayor problema generalmente suspendida o adherida a la superficies por fuerzas de adhesión muy débiles se usa para elaboración de jabones para manos.

Agentes abrasivos.- Separan suciedades altamente adheridas como la grasa cuando ningún otro detergente es efectivo esto suele presentarse principalmente en suelos desgastados porque la suciedad queda adherida entre las grietas y sus fuerzas son muy fuertes como para ser eliminadas comúnmente entonces se hace necesario el uso de este tipo de detergentes y de sustancias auxiliares como feldespato o sílice finamente granulado logrando así que más de la sustancia limpiadora se ejerza sobre ella fuerzas de fricción que arrancan la suciedad permitiendo ser enjuagadas y eliminadas por arrastre de agua.

TABLA 2. ELECCIÓN DEL PRODUCTO DE LIMPIEZA

COMPOSICIÓN DE LA SUCIEDAD	PRODUCTO DE LIMPIEZA		
	FAMILIA	EJEMPLO DE PRODUCTOS	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
Azúcares solubles	Alcalinos	Sosa Potasa	Solubilizante Saponificante
	Alcalinos		
Otros hidratos de carbono	Productos enzimáticos		Hidrolizante Desagragante
Proteínas	Alcalinos	Sosa Potasa	
	Productos enzimáticos	Proteasas	Hidrolizante Desagragante
Materias grasas	Tensioactivos Aniónicos	Catiónicos No iónicos	Humectante emulsificante
	Productos enzimáticos	Lipasas	Hidrolizante Desagragante
Minerales	Acidos	Clorhídrico Nítrico Fosfórico	Solubilizante
	Secuestrantes (quelantes)	EDTA Polifosfatos Gluconato	Secuestrante
Sarro enológico	Alcalinos	Sosa	Solubilizante

Fuente: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridadalimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1.pdf>

4.4 RELACIÓN SUPERFICIE - SUCIEDAD

Se refiere a la mayor o menor adhesión de la suciedad con las superficies por lo que se busca productos para disminuir estas fuerzas y eliminar todo resto pegado y del mismo modo estos productos también deben ser compatibles con el material de la superficie para tener mayor contacto y poder de eliminación es así que los materiales considerados más estables son: el acero inoxidable, el aluminio, el vidrio y las sustancias plásticas y elásticas. Es así que el vidrio tiene una compatibilidad de 100 con los productos químicos, el acero inoxidable tiene 80, el aluminio tiene 70, la goma 30 y el plástico 20

4.5 TÉCNICAS DE LIMPIEZA

Todo procedimiento de limpieza debe acomodarse a la suciedad, al objeto si las superficies son planas, si son recipientes y utensilios pequeños se limpian en máquinas limpiadoras y los grandes depósitos e instalaciones cerradas, se limpian in situ desmantelar la instalación.

TABLA 3 TAREAS DE LIMPIEZA MANUAL Y ALTERNATIVAS DE MÉTODOS MECANIZADOS

OBJETO DE LIMPIEZA	MÉTODOS MANUALES	MÉTODOS ALTERNATIVOS
Artefacto de tipo metálico	Remojar, fregar	Pulverizar, rociar
Máquinas	Fregar	Pulverizar
Superficies es general	Cepillar, fregar	Cubrir de espuma, rociar
Jaulas	Fregar, cepillar, remojar	Tratamiento en máquinas
Estantes	Cepillar, barrer	Aspirar en seco

Fuente: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridadalimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1..pdf>

Métodos manuales de limpieza.- Se prefieren escobas y cepillos de material duradero, con mangos fijos. Entre ellos se encuentran los cepillos de mano, rasquetas, escoba de flecos, escoba en T para realizar un barrido en húmedo.

Métodos mecánicos.- consiste en un rociado seguido de un pulverizado y enjuagado

Otros métodos.- Son métodos extras cuando los anteriores son ineficaces o se requiere complementar.

- Inmersión y rellenado
- Ultrasonidos
- Tratamiento con espuma y gel

4.6 DESINFECCIÓN

En teoría este proceso reduce en 3 a 5 log de la contaminación microbiana inicial. Mediante la destrucción de agentes infecciosos o contaminantes presentes en objetos y ambientes. La desinfección solo asegura la eliminación de formas vegetativas pero no de esporas bacterianas. Posee una seguridad de 1 en 1000, por lo que es muy aplicable para sistemas de limpieza.

4.6.1 CLASIFICACIÓN

TABLA 4. CRITERIOS DE ELECCIÓN DE UN DESINFECTANTE

Molécula	Espectro					PH de actividad	Desarrollo de la actividad en presencia de materia orgánica o agua dura	Características principales
	Bacterias				Virus			
	Gram +	Gram -	Esporas	Mohos y levaduras				
Amonios cuaternarios	+	+/-	-	+	-	Indiferente	Si	Tensioactivo espumante no autorizado en lechería
Aldehídos	+	+	+	+	+	Ácido	No	Tóxicos
Agua oxigenada	+/-	+/-	-	--		Nuetro o ácido	Si	
Acido peracético	+	+	+	+	+	Ácido	Si	Puede ser corrosivo
Cloro	+	+	+	+	+	Alcalino	Si	Corrosivo
Yodo	+	+	+	+	+	Ácido	Si	Mancha
Tensioactivos anfóteros	+	+	-	+	-	Variable	No	
Alcoholes	+	+	-	+	-	Neutro	No	Inactivo Puro
	+	+/-	-	+	-		Si	Tóxico
Biguadinas	+	+	-	-	-	Interferente	Débil	

Fuente: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridadalimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1..pdf>

FACTORES QUE AFECTAN LA EFICIENCIA DE UN DESINFECTANTE

La acción y desempeño de un desinfectante se basa en cuatro factores tales como: armoniosa coordinación, efectividad, seguridad y economía. Estos factores se identifican como físicos, físicoquímicos, estructurales y biológicos.

LOS FACTORES FISICOS.-Los factores físicos son la concentración, la temperatura y el tiempo de exposición esenciales para lograr una equivalencia en la actividad del desinfectante. Cuando uno de estos factores permanece constante, los otros dos deben variar en forma inversamente proporcional, es decir si se da una concentración constante y la temperatura disminuye, el tiempo de exposición deberá que incrementarse; mientras que si se presenta un tiempo de exposición constante y la temperatura decrece más de lo normal, la concentración debe incrementarse. Por ejemplo al usar formol o formalina, a causa de una baja temperatura de sus soluciones se crea resistencia bacteriana o decrecimiento de la actividad de este desinfectante, entonces para equilibrar esta situación se debe aumentar la frecuencia de los tratamientos y disminuir la concentración puesto que si se eleva esta sería muy agresiva para los animales provocando lesiones epiteliales o a las mucosas. Las limitaciones que tienen algunos desinfectantes dan la pauta para cambiarlos a tiempo con otro tipo de desinfectante que garantice eficiencia. No cabe solo tomar en cuenta la idea de rotación, porque no se refiere a un fenómeno transitorio ni periódico sino a problemas constantes relacionados a la naturaleza de cada tipo de desinfectante.

FACTORES FISICO-QUIMICOS.-El factor químico es el pH, el mismo que es fundamental para cambiar la carga iónica en la superficie de la bacteria o bien para alterar el grado de acidez o alcalinidad del medio en que vive y así lograr su destrucción. Como ejemplo tenemos al glutaraldehído que cuando su solución tiene un pH alcalino, se protonizan alrededor del 50% de los grupos amino, en la superficie de la bacteria y el 50% restante es liberado y rápidamente atacado por el glutaraldehído de esta manera, la estructura de la pared celular del microorganismo se ve alterada e impedido la entrada de nutrientes hacia el interior de la célula por lo que los gérmenes mueren. Mientras que si se trata por el contrario de un pH ácido los grupos amino superficiales ya han sido acidificados, la penetración del glutaraldehído se hace necesaria para atacar a los grupos amino libres en el interior de la célula; entonces, es preciso equilibrar o romper la tensión superficial de la pared celular y para lograr esto se hace necesario usar un agente tensoactivo o detergente, que logra una desorganización intracelular que causa la muerte del microorganismo.

FACTORES ESTRUCTURALES.- Es posible que los microorganismos pueden ser inaccesibles al desinfectante porque la tensión del solvente no le permite ingresar a través de los poros, rugosidades o rajaduras de las maderas, arcillas o yeso a tratar y por ende los vuelve ineficientes. Para combatir esta limitación, se adiciona un agente detergente o humectante que rompe o nivela la tensión y así logra cumplir su propósito.

FACTORES BIOLÓGICOS.- Este punto comprende al tipo de microorganismos, la cantidad de ellos, es decir la carga microbiana, edad de los mismos, o sea, su estado adulto o forma vegetativa (espora), de igual manera su diversidad si se trata de una contaminación polimicrobiana y por último el tipo de defensa que ellos tienen si se trata de un gérmenes con cubierta o sin ella con agentes ácido resistentes, etc. Así que de esto dependerá el desinfectante a usarse.

4.7.2 RECOMENDACIÓN DE CONCENTRACIONES DE CLORO A EMPLEAR SEGÚN EL ELEMENTO A DESINFECTAR

TABLA 5. CONCENTRACION DE LOS DESINFECTANTES


ELEMENTO A DESINFECTAR	PARTES POR MILLÓN(PPM)
Agua potable	0.2
Desinfección de manos	50
Desinfección de mesas e instrumental de acero inoxidable	200
Desinfección de pisos, mesones en baldosín, ropa, útiles de aseo y material plástico	500
Desinfección de material orgánico	5000

Fuente: <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos/seguridadalimentaria/contenidos/Lecciones-y-Test/Lec-3.1..pdf>

4.6.2 CARACTERÍSTICAS DE UN DESINFECTANTE IDEAL

Para la elección de un desinfectante idea hay que tomar en consideración las condiciones del material que va a ser desinfectando analizando puntos como:

- Amplio espectro de actividad y elevada potencia frente a formas esporadas.
- Acción rápida y sostenida. No inactivado por materia orgánica
- Compatible con detergentes u otros desinfectantes para potenciar su actividad con una tensión superficial baja
- Estable a la concentración y dilución recomendadas, fácil de preparar y de usar, no tóxico que no produzca alergias.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE MANOS		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-01

Materiales


- Agua potable
- Jabón líquido
- Cepillo para uñas
- Gel antiséptico para manos
- Toallas de papel desechable.

Procedimiento

1. Retirarse alhajas como anillos, pulseras, etc.
2. Lavado vigoroso con agua y jabón durante 10 segundos y enjuagado con agua corriente.
3. Para un contacto rutinario basta con estos dos pasos. Tras secarse con papel, se cierra la canilla con el mismo.
4. Para un procedimiento invasivo se agrega además:
5. Cepillado de uñas (reservorio importante de microorganismos)
6. Cepillado de piel de manos y antebrazos
7. Enjuague con abundante con agua corriente
8. Aplicación de un antiséptico (los más utilizados son alcohol al 70%, iodóforos, alcohol iodado al 0.5% y clorohexidina al 4%)

Recomendaciones

- Lavarse cuidadosamente porque es un foco de contaminación.
- Si existen heridas cubrirlas para que los desinfectantes o el látex no la irriten.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE PISOS		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión:28/03/2014
		Código:PLD-02

Materiales

- Detergente cualquier marca y un pocillo para tomarlo
- Agua potable
- Dos baldes de aproximadamente 10L de volumen
- Escoba
- Cepillo
- Paños o franelas
- Cloro a 1000ppm de concentración.
- Trapeador
- Guantes de latex
- Gorro
- Mascarilla

Responsable: alumnos designados

Frecuencia: 3 veces por semana


Procedimiento

1. Retirar todos los elementos que puedan ser fácilmente removidos para facilitar la limpieza y evitar tropiezos o incomodidad.
2. Desenchufar y retirar el reverbero
3. Realizar, según el tipo de suciedad, una limpieza con agua fría o caliente.
4. Con ayuda de un paño húmedo hacemos un barrido comenzando por la esquina del fondo y en línea recta hacia la esquina de la puerta de entrada de la forma más ordenada posible para evitar la dispersión del polvo.
5. A la par del barrido procedemos a recoger las partículas de mayor tamaño en la esquina contraria por donde se inició.
6. Repetir ésta operación si se considera necesario.

7. Preparación de una solución compuesta por detergente y agua en proporciones que el operador considere adecuado tomando en cuenta que esta no debe estar ni muy diluida ni muy concentrada y solo la cantidad requerida para esa área.
8. Sumergir un trapeador limpio y desinfectado en la solución jabonosa
9. Retirar y proceder a restregar el piso de forma vigorosa comenzando por una esquina y en forma ordenada procurando eliminar toda sustancia o suciedad que se pueda encontrar adherida.
10. Procede a retirar el detergente con un trapeador u agua limpia cambiándola siempre que sea necesario.
11. Prepara una solución de 1000ppm de cloro para la desinfección y pasar con el trapeador teniendo cuidado de que todos los lugares seas desinfectados.
12. Recoger el material utilizado de forma ordenada y organizar el ambiente.

Recomendaciones

- El paso 8 y 9 se puede sustituir el trapeador por una escoba con cerdas duras si así lo requiere el piso.
- Las concentraciones los desinfectantes deben ser respetadas para no crear resistencia microbiológica.
- Restregar vigorosamente durante la limpieza para evitar o eliminar la formación de biofilms
- Tratar de sumergir como máximo tres veces el trapeador o escoba en las respectivas soluciones para evitar que disminuya la eficiencia del desinfectante y se provoque contaminación cruzada
- Tener cuidado de eliminar completamente el detergente porque puede inactivar el desinfectante.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE PAREDES		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión:
		Código:PLD-03

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- 2 Baldes
- Escoba
- Cepillo
- Esponja
- Cloro a 500ppm de concentración
- Paños limpios
- Gafas protectoras
- Gorro
- Mascarilla
- Guantes de Látex

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: una vez al mes

Procedimiento

1. Limpiar el polvo y toda suciedad de las paredes de arriba hacia abajo y de derecha a izquierda con escoba envuelta con un paño húmedo.
2. Preparar una solución con detergente
3. Con ayuda de la escoba restregar las partes altas de las paredes y con ayuda de un cepillo restregar las partes bajas para eliminar la suciedad adherida.
4. Eliminar el detergente con agua limpia y paños limpios.
5. Preparar una solución con cloro a 500ppm.
6. Refregar la solución en las paredes con un paño limpio teniendo cuidado de que llegue a todos los espacios.

Recomendaciones

- La limpieza siempre debe comenzar por la parte más alta y por la parte más sucia.
- Remover cualquier instrumento que incomode la limpieza o sobre el cual pueda caer la suciedad.
- Si no se alcanza a limpiar las esquinas más altas ayudarse de un banco o una escalera.
- Se debe eliminar en su totalidad el rastro detergente.
- Es conveniente dejar actuar el desinfectante una media hora antes de volver a acomodar algún material junto a la pared.
- Se recomienda comenzar la limpieza por la pared izquierda junto a la entrada y seguir ordenadamente hasta terminar por la derecha de la misma entrada.
- Si se realiza la limpieza de pisos y paredes el mismo día comenzar por las paredes.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE ESTANTES.		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-04

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Recipientes
- Baldes
- Esponja
- Alcohol etílico al 70%
- Tego 2%
- Paños limpios o toallas de papel desechables
- Atomizadores
- Guantes
- Mascarilla

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: 3 veces por semana

Procedimiento

1. Retirar todas las jaulas y colocarlas ordenadamente en el estante adjunto.
2. Remover el polvo existente con un paño húmedo
3. Lavar con detergente y refregar vigorosamente con cepillo.
4. Enjuagar con agua limpia.
5. Secar con un paño húmedo.
6. Desinfectar con una gasa embebida o haciendo uso de un atomizador de alcohol al 70% o con tego 2% y esparcirlo con un paño.
7. Dejar actuar por lo menos una media hora antes de acomodar nuevamente las jaulas.

Recomendaciones

- Procurar limpiar los estantes después que las jaulas para que la contaminación de esta no afecte a los estantes limpios
- Usar un cepillo que no deteriore o dañe el material de los estantes
- Limpiar cuidadosamente los bordes los ángulos y canales.
- Si se hace uso de cloro para la desinfección se hace en una concentración de 200ppm pero no usarlo con regularidad debido a que el cloro es corrosivo y deterioraría a los estantes.
- Para iniciar la limpieza comenzar por el estante más oculto y terminar con el más próximo a la salida.
- Comenzar limpiando la división más alta y del lado contrario al siguiente estante para continuar de forma ordenada y evitar que por salpicadura se contamine con suciedad el otro estante.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE VIDRIOS		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-05

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Recipientes
- Escobillón
- Cepillo
- Esponja
- Alcohol etílico al 70%
- Tego 2%
- Cloro 200ppm
- Atomizadores
- Paños limpios
- Guantes de látex
- Mascarilla

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: en puertas 3 veces por semana en ventanas 1 vez al mes.

Procedimiento

1. Limpiar el polvo con un paño húmedo
2. Preparar una solución de detergente.
3. Con ayuda de una esponja y con la solución jabonosa limpiar la suciedad de los vidrios comenzando por la esquina más alta y descendemos a la esquina más baja.
4. Si existe suciedad fuertemente adherida eliminarla con un cepillo.
5. Aclarar con agua para eliminar el detergente.
6. Desinfectar con alcohol etílico al 70% o en su defecto con tego 2% o cloro 200ppm no los tres a la vez y limpiar con toallas de papel.

Recomendaciones

- En el caso de los vidrios de las puertas también es muy importante que se limpie y desinfecte las partes de aluminio y sobre todo la perilla que es la parte más contaminada.
- De igual manera en el caso de la puerta se debe limpiar a ambos lados.
- Para desinfectar el aluminio de las puertas y la perilla es conveniente usar alcohol mas no cloro para que no lo oxide.
- En el caso de las ventanas es conveniente usar una escoba para alcanzar a restregar las partes más altas.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE JAULAS		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-06

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Cepillo
- Esponja
- Alcohol etílico al 70%
- Paños limpios
- Guantes de látex
- Recipiente

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: pasando un día

Procedimiento

1. Se hace un primer enjuague con un chorro de agua corriente y limpia para eliminar los restos de aserrín y amoníaco
2. Se prepara una solución de detergente
3. Con cepillo y con la solución se restriega vigorosamente las paredes de la jaula principalmente en las esquinas y ángulos.
4. Se aclara con abundante agua
5. Se deja secar
6. Se Desinfecta con ayuda de un paño empapado de alcohol al 70% o en su defecto sumergiendo la jaula en una solución con cloro a 200ppm.
7. Se deja actuar mínimo 30 minutos al desinfectante antes de agregarle aserrín nuevamente.

Recomendaciones

- Cambiar el material del lecho dos a tres veces por semana para evitar concentraciones altas de amoníaco que son perjudiciales para los animales, esta frecuencia también depende del tamaño, cantidad de ratones albergados y de la ventilación del ambiente.
- Se recomienda tener un orden como empezar por la primera jaula de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo.
- Usar ese orden para cambiar el lecho, dar la comida y el agua. De esa forma se evita que por distracción, alguna jaula quede sin cambiar o sin alimento o agua.
- Antes de volver a usar la jaula examinar si esta esta seca para evitar la inactivación del desinfectante al entrar en contacto con el aserrín.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE BEBEDEROS		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-07

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Recipiente grande
- Escobillón
- Cloro a 100ppm

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: cada vez que cambie el agua

Procedimiento

1. Enjuagar con agua corriente para eliminar partículas.
2. Sumergir una solución esposa de detergente
3. Restregar en el interior y en el exterior con un cepillo para envases.
4. Enjuagar con abundante agua hasta eliminar por completo los rastros de detergente
5. Sumergir en una solución con cloro al 100ppm y dejarlo por media hora
6. Secar el exterior con un paño limpio y voltearlo para que elimine los restos de solución que se encuentran en el interior.
7. Dejar que seque antes de su uso.

Recomendaciones

- Los frascos bebederos serán lavados y desinfectados cada vez que se suministre agua de bebida. Sumergir completamente el bebedero en la solución desinfectante sin que nada que fuera
- Se sabe que un bebedero está limpio cuando el agua limpia corre homogéneamente por sus paredes y no queda atrapada como en forma de gotas si esto ocurriese se debe volver a lavar porque es un indicio de que existe grasa en él.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE COMEDEROS.		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-08

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Recipiente
- Cepillo
- Esponja
- Alcohol etílico al 70%
- Cloro 200ppm
- Gasa
- Paños limpios
- Guantes de látex
- Mascarilla
- Gafas

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: pasando un día

Procedimiento

1. Limpiar con el cepillo húmedo para eliminar residuos incrustado oxido y polvo.
2. Preparar una solución de detergente
3. Sumergir en la solución jabonosa y restregar vigorosamente hasta eliminar toda la suciedad existente.
4. Enjuagar con abundante agua corriente.
5. Desinfectar con ayuda de un mapo o gasa empapada con alcohol al 70% y distribuir uniformemente por todo el comedero, incluyendo los ángulos.
6. Dejar secar una media hora antes de volver a usar.

Recomendaciones

- Tener cuidado de lastimarse con las salientes de los comedores al lavarlos.
- Los comederos son los más complicados de lavar y desinfectar pero se debe realizar adecuadamente este proceso para evitar contaminación del alimento y por ende del animal.
- No usar inmediatamente el comedero porque se corre el riesgo de que la acción del desinfectante quede anulada por la presencia del alimento.
- En los comederos muy deteriorados conviene usar una lija de agua para sacar el óxido.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE TAPONES DE LOS BEBEDEROS.		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-09

Materiales

- Detergente
- Agua potable
- Recipientes
- Cepillo fino para pipetas
- Esponja
- Alcohol etílico al 70%
- Cloro 200ppm
- Paños limpios
- Guantes de látex
- Mascarilla

Responsable: alumnos designados


Frecuencia: cada vez que se cambia el agua

Procedimiento

1. Se separa el tapón de caucho del filtro metálico
2. Ambos se sumergen en una solución con detergente
3. Los filtros metálicos se lavan con el cepillo delgado en la parte interior y con la esponja en la parte exterior.
4. Los tapones de caucho se lavan con la esponja.
5. Se aclaran con abundante agua.
6. Se desinfectan introduciendo los tapones en una solución de cloro a 100ppm durante 30 minutos. Los filtros se sumergen en una alcohol al 70% durante 30 minutos
7. Se deja secar sobre una toalla o un paño limpio.
8. Se arma de nuevo el tapón.

Recomendaciones

- No desinfectar los filtros con cloro porque los oxida.
- No desinfectar los tapones con alcohol porque tiende a ablandarse.
- El lavado de los tapones debe ser a la par del lavado de los bebederos
- No usar inmediatamente dejar que se seque.
- Si no se puede separar el tapón de caucho de su filtro ir desinfectado en forma alterna, es decir una vez con alcohol y la siguiente con cloro para minimizar el desgaste de las partes.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE TRAPEADORES ESCOBAS Y PAÑOS.		
	Aprobado por: Dr. Francisco Portero BQF. Germán Toapanta	Fecha de emisión: 28/03/2014
		Código:PLD-10

Materiales.

- Detergente
- Agua potable
- Guantes de látex
- Recipientes.

Responsable: alumnos designados

Frecuencia: luego de cada uso

Procedimiento

1. Enjuagar con abundante agua hasta conseguir que el agua que se elimina salga cada vez lo más clara posible
2. Sumergir en una solución con detergente
3. Procedemos a lavar vigorosamente las veces que el material lo requiera hasta conseguir que visualmente se vea lo más limpio posible.
4. Aclarar con abundante agua.
5. Sumergir en una solución desinfectante de cloro a una concentración de 1000ppm
6. Dejar secar al ambiente colgado en un tendedero con la mecha hacia abajo hasta su siguiente uso.

Recomendaciones.

- Es obligación de la persona que ocupe alguno de estos instrumentos que luego de realizada su actividad lave cuidadosamente y siguiendo los pasos antes descritos para que de este modo se mantenga una cadena de orden en el uso y no existan altercados.
- La escoba de lavado no debe ser la misma que se usa habitualmente para barrer el resto de áreas para evitar problemas de confusión.
- Tener muy en cuenta que estos utensilios de limpieza son un reservorio de microorganismos así que mientras más limpios más efectiva será la limpieza.

5 REGISTROS

REGISTRO DE ACTIVIDADES DE LIMPIEZA Y DESINFECCION DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS, ESPOCH.

FICHA DE CUMPLIMIENTO

ÁREAS:.....

ESTRUCTURA	ACTIVIDAD	HORA	FECHA	RESPONSABLE	SUPERVISOR	OBSERVACIONES

Área apta para el alojamiento de animales de experimentación SINO

SUPERVISOR

FICHA DE CONTROL

[illegible]

145

**REGISTRO DE ACTIVIDADES DE LIMPIEZA Y DESINFECCION DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS,
ESPOCH.**

CONTROL DE CAMBIOS




GRUPO N°	REPRESENTANTE	APROBADO POR	FECHA DE INICIO	FECHA DE TERMINO

ANEXO 1. PLAN MAESTRO DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DEL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS

DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO A REALIZAR	FRECUENCIA	RESPONSABLE	CONTROL MICROBIOLÓGICO	
			FRECUENCIA	RESPONSABLE
Limpieza y desinfección de pisos (PLD-02)	3 veces a la semana	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de paredes(PLD-03)	1 vez al vez	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de los estantes(PLD-04)	3veces por semana	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de ventanas(PLD-05)	1 vez al mes	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de puertas(PLD-05)	1 vez al mes	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de jaulas(PDL-06)	Pasando un día	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de bebederos(PLD-07)	Pasando un día	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de comederos(PLD-08)	Pasando un día	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de tapones de los bebederos(PLD-09)	Pasando un día	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Limpieza y desinfección de trapos(PLD-10)	Antes y después de su uso	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Cernido del aserrín	Cada vez que se cambie el lecho	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Agua destilada (grifo clorada a 0.3ppm)	Diario	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio
Alimento	Diario	Alumnos designados	Cada 6 meses	Técnico del bioterio

ANEXO B

ANÁLISIS MICRBIOLÓGICO DE LOS PELLETS

 Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos		
Contáctanos: 032 942-022 ó 0984648617 – 032 360-260 Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador		
EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS		
CÓDIGO: 018-2013		
CLIENTE: Srta. Evelyn Chacha.		
TIPO DE MUESTRA: Alimento para ratones		
FECHA DE MUESTREO: 2014-01-14		
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 2014-01-14		
DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALOR ENCONTRADO
<i>Aerobios mesófilos UFC/g</i>	Siembra en superficie	300
<i>Coliformes totales UFC/g</i>	Petrifilm	Ausencia
<i>Coliformes fecales UFC/g</i>	Petrifilm	Ausencia
<i>Mohos y levaduras UPC/g</i>	Siembra en superficie	150
OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANALISIS: 2014-01- 14		
FECHA DE ENTREGA: 2014-01- 20		
RESPONSABLES:		
 Dra. Gina Álvarez R.		
 Dra. Fabiola Villa		

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA DE GRIFO



SAQMIC
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 032 942-022 ó 0984648617 – 032 360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Riobamba – Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE AGUA

CÓDIGO: 017-2013

CLIENTE: Srta. Evelyn Chacha.		
TIPO DE MUESTRA: Agua del grifo.		
FECHA DE MUESTREO: 2014-01-14		
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 2014-01-14		

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALOR ENCONTRADO
<i>Coliformes totales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	96
<i>Coliformes fecales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	640

OBSERVACIONES:

FECHA DE ANALISIS: 2014-01-14

FECHA DE ENTREGA: 2014-01-20

RESPONSABLES:


Dra. Gina Álvarez R.


Dra. Fabiola Villa



SAQMIC
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 032 942-022 ó 0984648617 – 032 360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Riobamba – Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE AGUA

CÓDIGO: 015-2013

CLIENTE: Srta. Evelyn Chacha.		
TIPO DE MUESTRA: Agua del grifo con cloro		
FECHA DE MUESTREO: 2014-01-14		
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 2014-01-14		

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALOR ENCONTRADO
<i>Coliformes totales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia
<i>Coliformes fecales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia

OBSERVACIONES:

FECHA DE ANALISIS: 2014-01-14

FECHA DE ENTREGA: 2014-01-20

RESPONSABLES:


Dra. Gina Álvarez R.


Dra. Fabiola Villa

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL AGUA DESTILADA



SAQMIC
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 032 942-022 ó 0984648617 – 032 360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Riobamba – Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE AGUA

CÓDIGO: 016-2013

CLIENTE: Srta. Evelyn Chacha.		
TIPO DE MUESTRA: Agua destilada.		
FECHA DE MUESTREO: 2014-01-14		
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 2014-01-14		

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALOR ENCONTRADO
<i>Coliformes totales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia
<i>Coliformes fecales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia

OBSERVACIONES:

FECHA DE ANALISIS: 2014-01-14

FECHA DE ENTREGA: 2014-01-20

RESPONSABLES:


Dra. Gina Álvarez R.


Dra. Fabiola Villa



SAQMIC
Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos

Contáctanos: 032 942-022 ó 0984648617 – 032 360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes
Riobamba – Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE AGUA

CÓDIGO: 014-2013

CLIENTE: Srta. Evelyn Chacha.		
TIPO DE MUESTRA: Agua destilada con cloro		
FECHA DE MUESTREO: 2014-01-14		
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 2014-01-14		

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALOR ENCONTRADO
<i>Coliformes totales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia
<i>Coliformes fecales UFC/100ml</i>	Membrana Filtrante	Ausencia

OBSERVACIONES:

FECHA DE ANALISIS: 2014-01-14

FECHA DE ENTREGA: 2014-01-20

RESPONSABLES:


Dra. Gina Álvarez R.


Dra. Fabiola Villa